

الكفايات العملية

لتخصص

فنيو المختبرات الطبية

تأليف

يوسف ابراهيم المشني عبد الرحيم حسني فطائر

١٩٩٩



المستقبل للنشر والتوزيع

عمان - الأردن

0201501



اللفايات العملية لفنيو المختبرات الطبية

تأليف

عبد الرحيم فطايير

يوسف حسني المشني

الناشر

دار المستقبل للنشر والتوزيع

عمان - الأردن

كافة حقوق التأليف
والنشر والطبع والتوزيع محفوظة

١٤٢٠ هـ - ٢٠٠٠ م

الطبعة الأولى

رقم الإيداع لدى دائرة المكتبة الوطنية

(١٩٩٩/٩/١٥٤٢)

رقم التصنيف: ٦١٢,٠١٥٧٨

المؤلف ومن هو في حكمه: يوسف ابراهيم المشني، عبد الرحيم حسني قطاير

عنوان الكتاب: التقنيات العلمية لتخصص فنيو المختبرات الطبية

الموضوع الرئيسي: ١. العلوم التطبيقية

٢. المختبرات - السلامة العامة

بيانات النشر: عمان، دار المستقبل

تم إعداد بيانات الفهرسة والتصنيف الأولية مع قيد دائرة المكتبة الوطنية

طبع في مطابع الازن ٥/٣٦١٠٠١١



هذا الكتاب

تم وضع هذا الكتاب باللغة العربية ليشمل الكفايات العملية لتخصص فنيو المختبرات الطبية بأسلوب علمي تطبيقي ليتسنى للطلاب التحضير المسبق للتجارب العملية التي سيطبقونها في المختبرات ويحكم إليه كأداة قياس على مدى إتقانه الخطوات والمهارات التي يجب ممارستها في المختبر سواء كان طالبا أو فنيا . ولكي تعمق لدى القارئ الخلفية النظرية لكل كفاية عملية فقد تم تضمين كل كفاية عملية مبدأها العلمي والهدف من إجرائها .

الناشر

مقدمة :

الحمد لله رب العالمين والصلاة والسلام على سيد المرسلين وعلى آله وصحبه أجمعين وبعد:

فقد اقتضت الضرورة العلمية أن يوضع بين يدي طلبة المختبرات الطبية والعاملين في هذا المجال كتاب باللغة العربية يشمل الكفايات العملية لتخصص "فني المختبرات الطبية" بأسلوب عملي تطبيقي ليتسنى للطالب التحضير المسبق للتجارب العملية التي سيطبقها في المختبرات ويحكم إليه (الكتاب) أداة قياس على مدى إتقان الخطوات والمهارات التي يجب عليه ممارستها في المختبر سواء أكان طالباً أم فنياً.

وعطفاً عما تقدم فقد كان من الأهمية كتابة مبدأ التجربة وتسويغ كل خطوة من خطوات العمل حتى تعمق لدى القارئ الخلفية النظرية لكل كفاية عملية كما أن تحديد هدف الكفاية وإعداد الأجهزة والمواد اللازمة لاجرائها قبل الشروع في تحضيرها يعني نجاحها والبعد عن الارتباك والتعطيل وفسادها أحياناً.

وقد اقتضت الخطة المنهجية لهذا الكتاب تقسيمه إلى تسعة فصول، قام بإعداد الأربعة الأولى منها يوسف المشني وهي على النحو التالي :

الفصل الأول: تناول كفايات علم الأحياء الدقيقة الأساسيات والطبي والتشخيصي.

والفصل الثاني: علم الطفيليات الطبي. والفصل الثالث: علم المناعة والأمصال.

والفصل الرابع: علم التحصينات المجهرية .

وقام بأعداد الخمسة الأخرى عبد الرحيم فطايير حيث تناولت الموضوعات التالية:

الفصل الخامس : علم الدم. والسادس: بنك الدم. والسابع : علم الكيمياء الحيوية السريرية.

والثامن : الكيمياء التحليلية. والتاسع : طرق التحليل الآلي.

وبإنا نرجو الله أن نكون قد عرض مادة هذا الكتاب بأمانة وموضوعية، آمليين أن يعد عملنا هذا

إضافة علمية في المكتبة العربية الطبية

والله من وراء القصد

المؤلفان

الفصل الأول

أساسيات علم الأحياء الدقيقة

الوحدة الأولى: أساسيات علم الأحياء الدقيقة

الكفاية العملية - ١ -

اتقان اجراءات السلامة لمنع التلوث والاصابة في مختبرات علم الاحياء الدقيقة

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على القيام بإجراءات السلامة في مختبر علم الاحياء الدقيقة لمنع التلوث والاصابة.

المبدأ :

يعتمد على عدم التعرض لمسببات الأمراض من خلال العينات التي تحملها والوقاية من الاصابة من خلال التحصين ضد بعض الأمراض السارية.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- محاليل مطهرة مثل Na-hypochlorite او Phenol
- محارم ورق تستخدم لمرة واحدة .
- صابون
- قناع وجهي
- قفازات بلاستيكية

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	استخدم خزانة السلامة المحتوية على مفرغات للهواء أثناء تعاملك مع الجراثيم الضارة للجهاز التنفسي بخاصة.	لمنع استنشاق الأحياء الدقيقة المتعامل بها .
٢.	لبس الشرائع واللائيبب والزجاجيات الأخرى في وعاء يحتوي محلول مطهر مثل Na-hypochlorite او الفينول.	لقتل ما عليها من أحياء دقيقة.
٣.	عقم أطباق الزراعة بالحرق او المبخرة autoclave قبل القاءها في سلة المهملات.	لمنع انتشار الأحياء الدقيقة وتعبئها للتلوث .
٤.	لا تدخن ولا تأكل ولا تشرب ولا تضع اصبعك او قلمك في فمك ولا تفرك عينيك أثناء تواجدك في مختبر علم الاحياء الدقيقة.	لكي لا تنتقل اليك الاحياء الدقيقة بواسطة تلط الطرق .

٥.	اغسل يديك بالماء والصابون قبل مغادرتك المختبر.	لمنع نقل الأحياء الدقيقة لخارج المختبر .
٦.	اخلع معطفك قبل مغادرتك للمختبر.	لمنع نشر الأحياء الدقيقة خارج المختبر .
٧.	امسح الطاولة التي تعمل عليها بالمطهرات بين الوقت والآخر.	لمنع نقل الأحياء الدقيقة اليك من الطاولة .
٨.	مارس جميع خطوات العمل بهدوء ورتابة ودون أحداث تطاير في المواد واحرق سلك الحقن Wireloop قبل وبعد كل استعمال.	لمنع أي تلوث .
٩.	استخدم ماصات أوتوماتيكية وليس فموية ولا تنفخ بقايا السائل الموجودة في الماصة وضع الماصة في محلول مطهر بعد الاستخدام مباشرة.	لمنع انتقال الأحياء الدقيقة عبر الفم.
١٠.	قم بتحصين نفسك ضد بعض الأمراض المعدية مثل الدفتيريا والكزاز وشلل الأطفال والسل والتيفوئيد والجذري والحصبة الألمانية في حالة النساء الحوامل وضد فيروس التهاب الكبد خاصة من النوع B.	لاكتساب مناعة ضد الأمراض المعدية .
١١.	حاول ارتداء قناع وجهي وقفازات يدوية بلاستيكية كلما دعت الحاجة لذلك.	لمنع تعرضك لمسببات الأمراض .

الكفاية العملية - ٢ -

استعمال المجهر

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على استخدام المجهر لمشاهدة الشرائح والمحافظة عليه.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- قطن
- محلول زابلين
- المجهر .

الرقم	الخطوات	المجروات
١.	شغل مفتاح الاشارة	لاضاءة المصباح.
٢.	تأكد من نظافة المجهر بعامة والعدسات الشيئية بخاصة.	لمشاهدة صـورة واضحة.
٣.	ابعد العدسات الشيئية عن قاعدة الشريحة بوساطة المنظم الخشن ثم ضع الشريحة على منصبتها .	للتحكم في وضع الشريحة بشكل مريح.
٤.	حدد العدسة الشيئية التي ترغب في استخدامها أو ابدأ باستخدام العدسة ١٠ ثم ٤٠ ثم ١٠٠ .	لكل نوع من التحضير عدسة خاصة به / تستخدم العدسة ١٠ لسمح الشريحة وضبط إظهار الصورة .
٥.	ارفع قاعدة الشريحة باتجاه العدسة الشيئية حتى تلاصقها وبدون ان تكسرها بوساطة المنظم الخشن.	للبدء بخطوات اظهار الصورة.
٦.	لق نظرة من خلال العدستين العينيتين للتأكد من مناسبة كمية الضوء المنبعثة اذا لم تكن مناسبة بإمكانك زيادتها او انقاصها حسب ما تراه مناسباً.	لتنظيم الضوء
٧.	ضع عينيك على العدستين العينيتين ثم ابدأ بإبعاد الشريحة عن العدسة الشيئية بلطف وهدوء وببطء حتى تظهر لك للصورة عندها توقف عن استخدام المنظم الخشن.	للوصل الى قطرة ظهور الصورة.
٨.	حرك المنظم الناعم.	لتوضيح الصورة .
٩.	بعد الانتهاء من العمل تأكد من نظافة العدسات الشيئية من بقايا الزيت وذلك بمسحها بقطنة مغمورة بالزابلين ومسحه كذلك من الغبار.	للمحافظة على نظافة الجهاز.

الكفاية العملية - ٣ -

استعمال الحاضنة Incubator

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على استعمال الحاضنة والمحافظة عليها.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

• فوطه وماء • جهاز الحاضنة .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	امسح الجهاز من الداخل والخارج بفوطه مبللة ثم جافة.	للمحافظة على نظافة الجهاز .
٢.	تأكد من عداد درجة الحرارة بأنه موضوع على درجة الحرارة المطلوبة .	لتحديد درجة الحرارة المطلوبة.
٣.	افتح الجهاز وضع المواد المراد حضنها داخل الجهاز .	لتوفير درجة حرارة مناسبة للمواد المحضونة.
٤.	تأكد من احكام اغلاق ابواب الجهاز (الزجاجي الداخلي والمعدني الخارج).	للمحافظة على ثبات درجة الحرارة داخل الجهاز .

الكفاية العملية - ٤ -

استعمال المبخرة Autoclave

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على استعمال جهاز المبخرة والمحافظة عليه.

المبدأ :

يعتمد على تمخين الماء وانتاج البخار في جو مغلق حتى يرتفع ضغط البخار ويؤدي ذلك إلى رفع درجة الحرارة داخل الجهاز.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

• ماء .
• المواد المراد تعقيمها .

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	ضع كمية من الماء في الجهاز لتغطي ارتفاع السخان الكهربائي.	لكي تكون مصدر للبخار .
٢.	ضع المواد المراد تعقيمها على سلة الجهاز وبشكل مرتب.	حتى لا تلامس قاع الجهاز وتبقى مرتفعة عنه.
٣.	ارجع السلة الى داخل الجهاز واغلقه بإحكام.	تمهيدا للبدا بالتشغيل ومنعا لتسريب البخار .
٤.	اغلق أي صمام للبخار .	لمنع تسريب البخار .
٥.	شغل الجهاز باستخدام مفتاح التشغيل.	للبدء بعمل الجهاز لتوفير الحرارة اللازمة للتعقيم .
٦.	راقب ساعات الضغط ودرجة الحرارة حتى تصل الى الدرجة المطلوبة وهي في العادة ١٢١ م والضغط ١٥ باوند/انش ^٢ .	حتى نبدأ عندها بحساب الزمن.
٧.	راقب الزمن اللازم بعد ذلك وعادة ما يكون ١٥ دقيقة.	لكي لا نزيد الزمن او ننقصه وهذا الزمن كاف لتحقيق هدف التعقيم.
٨.	افتح صمام البخار في حالة ارتفاع درجة الحرارة اولا والضغط حتى يعودان الى الارقام المطلوبة.	لثبيت الضغط ودرجة الحرارة.
٩.	اطفيء الجهاز بعد انقضاء الوقت اللازم وانتظر حتى يبرد قليلا ثم افتح الجهاز واخرج المواد المعقمة منه مرتديا قفلات قماشية واقية.	لانتهاء العملية ولمنع الاذى عن اليدين.

الكفاية العملية - ٥ -

استعمال فرن الهواء الحار Hot Air Oven

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على استعمال فرن الهواء الحار والمحافظة عليه.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- فوطه وماء.
- جهاز فرن الهواء الحار .
- المواد المراد تعقيمها.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	امسح الجهاز من الداخل والخارج بفوطه مبللة يليها فوطه جافة.	للمحافظة على نظافة الجهاز .
٢.	ضع التدريج الحراري على رقم درجة الحرارة المطلوبة.	لتحديد الدرجة المطلوبة.
٣.	انتظر حتى تصل درجة حرارة الجهاز درجة الحرارة المطلوبة وذلك بانطفاء مصباح منظم الحرارة Thermostat.	للتأكد من وصول الدرجة المطلوبة.
٤.	ضع المواد المراد تعقيمها وراقب الزمن اللازم لذلك. (ملاحظة : يمكن ان تكون هذه الخطوة قبل الخطوة الثالثة).	لكي تتعرض للحرارة وتحقق التعقيم.
٥.	اطفا الجهاز وانتظر حتى يبرد قليلا، ثم بوساطة قفازات قماشية واقية اخرج المواد المعقمة مسن داخل الجهاز.	لانتهاء العمل والوقاية من اذى اليدين.

الكفاية العملية - ٦ -

طريقة الصبغة البسيطة Simple Staining

الهدف :

- ١- ان يكون الطالب قادرا على القيام بخطوات طريقة الصبغة البسيطة .
- ٢- ان يكون الطالب قادرا على التعرف الى شكل وترتيب الخلايا .

المبدأ :

تقبل جميع أنواع البكتيريا باستثناء البكتيريا المقاومة للحمض tsaF-dica Bacilli الصبغة البسيطة وتستقر في جدارها الخلوي وتظهر بلون تلك الصبغة وهنا يكون اللون البنفسجي، وتفيد في إظهار شكل وتركيب الخلايا البكتيرية .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- محلول ملحي ، نمو بكتيري على طبق بتري.
- لهب بنموني.
- سلك الحقن Wireloop
- صبغة بسيطة ميثيل أزرق Methylene Blue، او Crystal Violet
- ورقة ترشيح
- زيت غمر
- مجهر .

الرقم	الخطوات	المجرات
١.	حضر لطفة بكتيرية باستخدام محلول ملحي طبيعي وجفها وثبتها بتمريرها فوق اللهب بزواوية ٤٥ ثلاث مرات.	لفحص البكتيريا والتثبيت لمنع الانزلاق مع الغسيل.
٢.	اغمر الشريحة في أي صبغة بسيطة مثل الميثيل الأزرق او Crystal violet لمدة نصف دقيقة الى دقيقة واحدة.	لاكتساب اللون.
٣.	اغسل الشريحة بماء الحنفية الجاري الهاديء	للتخلص من بقايا الصبغة .
٤.	جفف الشريحة بالضغط عليها بوساطة ورقتي ترشيح.	للتخلص من بقايا الماء .
٥.	ضع قطرة زيت على اللطفة smear وشاهدها تحت المجهر مستخدما العدسة الزيتية ١٠٠.	لتجميع الأشعة المتشعبة بعد اختراقها للشريحة وملاحظة شكل وترتيب الخلايا .

الكفافية العملية -٧-

طريقة جرام في الصبغ Gram Staining

الهدف :

- ١- أن يكون الطالب قادرا على اتقان خطوات طريقة جرام في الصبغ.
- ٢- أن يكون الطالب قادرا على تمييز تفاعل البكتيريا مع صبغة جرام وشكل الخلايا وترتيبها .

المبدأ:

عند دخول صبغة جرام إلى جدار الخلية فإنها ترتبط مع مواقع الاستقبال فيه وعند إضافة اليود فإن الأخير يقوم بترسيخ وتثبيت صبغة جرام في جدار الخلية عن طريق اتحاده معه وتكوين مركب معقد من المحلولين ويزيد من قوة ترابطهما، وعند إضافة الكحول المزيل للصبغة فإنه قد ينجح في إزالة صبغة جرام من جدار الخلية بعد إذابتها وفي هذه الحالة تكون البكتيريا قد تقبلت الصبغة البديلة سفرانين وتظهر باللون الأحمر ونقول في هذه الحالة أن البكتيريا لم تقبل صبغة جرام وأنها سالبة التفاعل معها. أو أن الكحول لا يمكن من إذابتها وبالتالي من إزالتها من جدار الخلية وفي هذه الحالة لن يكون للصبغة البديلة أية مواقع استقبال ونقول في هذه الحالة أن البكتيريا تقبلت صبغة جرام وأنها ايجابية التفاعل معها .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- محلول ملحي.
- نمو بكتيري على طبق بتري
- صبغة Crystal violet
- كحول مطلق
- ورق ترشيح
- مجهر
- سلك الحقن Wireloop
- لهب بنسون
- محلو اليود
- صبغة بديلة Safranin
- زيت غمر
- ماء حنفية

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	حضر اللطخة البكتيرية باستخدام محلول ملحي طبيعي ، جفف وثبت.	تمهيدا لفحصها، التثبيت لمنع انزلاق اللطخة.
٢.	اغمر الشريحة في محلول صبغة جرام Crystal violet لمدة ٦٠-٣٠ ثانية	لتأخذ الصبغة.
٣.	اغسل الشريحة بماء الحنفية الهادي، ثم اغمر في محلول اليود لمدة ٦٠-٣٠ ثانية.	للتخلص من بقايا الصبغة واليود لتثبيت صبغة جرام في جدار الخلية.
٤.	اغسل الشريحة ثم اغمر في الكحول المطلق لمدة ٦٠ ثانية.	للتخلص من آثار اليود ثم لإزالة الصبغة بالكحول.

٥.	اغسل الشريحة جيدا ثم اغمر في الصبغة البديلة Safranin لمدة ٣٠-٦٠ ثانية.	لصبغ الخلايا التي لم تثبت فيها صبغة جرام.
٦.	اغسل الشريحة جيدا ثم جففها ثم ضع قطرة زيت غمر وشاهدها تحت المجهر مستخدما العدسة الزيتية.	للتخلص من بقايا الصبغة والماء. لتوضيح الصبغة تحت العدسة الزيتية.
٧.	إذا ظهر لون الخلايا بنفسجيا تكون البكتيريا ايجابية التفاعل مع صبغة جرام، وإذا ظهر لون الخلايا احمرًا تكون البكتيريا سالبة التفاعل مع صبغة جرام.	قراءة النتيجة وبذلك تكون البكتيريا قد تقبلت صبغة جرام في حالة ايجابية التفاعل ولم تقبلها في حالة سلبية التفاعل .

تقنية القطرة المعلقة

Hanging Drop Techn.

المبدأ :

يعتمد على إعطاء الحرية الكاملة للخلايا البكتيرية في الحركة إذا كانت متحركة، وبالتالي نعلق قطرة المعلق في تجويف لا يمسها سطحاً وبالتالي تظهر البكتيريا على حقيقتها في صفة الحركة وبذلك نتجنب ظهور نتائج سلبية خاطئة كما يحدث في حالة استخدام الشريحة العادية أحياناً، ويمكن استخدام المحلول الملحي ليتساوى الضغط الأسموزي على جانبي غشاء الخلية.

الهدف :

- ١- أن يكون الطالب قادراً على إجراء خطوات تقنية القطرة المعلقة .
- ٢- أن يكون الطالب قادراً على تمييز البكتيريا المتحركة من غير المتحركة.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- محلول محلي طبيعي
- سلك الحقن Wireloop
- شريحة ذات فجوة Cavity slide
- مجهر

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	ضع قطرة من المحلول المائي الطبيعي N S على منتصف غطاء شريحة.	لمعل المعلق.
٢.	خذ مستعمرة بكتيرية بوساطة سلك الحقن Wireloop وامزجها مع قطرة المحلول الملحي لتكوين معلق بكتيري.	لتحضير المعلق.
٣.	امسح بطرف قفنة مبللة بالماء على حواف غطاء الشريحة.	لإحداث التصاق بين غطاء الشريحة والشريحة.
٤.	اقلب الشريحة ذات الفجوة Cavity slide على غطاء الشريحة بحيث تكون قطرة المعلق في فراغ التجويف.	لكي تأتي قطرة المعلق في التجويف ولا تخضع لأي ضغط قد يؤدي إلى ظهور نتائج سلبية خاطئة.
٥.	اقلب الشريحة إلى وضعها الطبيعي ومشاهدها تحت المجهر باستخدام العدسات ذات التكبير المنخفض .	للتأكد من حركة البكتيريا باستخدام العدسات الجافة .
٦.	ضع طبقة رقيقة من المعجونة على حواف غطاء الشريحة الموضوع عليه قطرة المعلق البكتيري واقلب فوقها شريحة زجاجية عادية .	تستخدم هذه الطريقة في حالة عدم توفر الشريحة ذات الفجوة .

الكفاية العملية - ٩ -

تحضير الاوساط الزراعية Preparation of Culture Media

الهدف :

- ١- ان يكون الطالب قادرا على القيام بخطوات تحضير الاوساط الزراعية .
- ٢- ان يكون الطالب قادرا على الحكم على صحة ما قام به من عمل.

المبدأ :

يعتمد ذلك على التقيد بمحتويات الوسط كما ونوعا وتحضير وسط معقم لتجنب ظهور نتائج ايجابية خاطئة وظهور نمو بكتيري غير مطلوب .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- مسحوق الوسط
- ميزان
- جهاز المبخرة autoclave
- قارورة
- ماء مقطر
- لهب بنسون
- شريط لاصق

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	زن مسحوق الوسط المراد تحضيره وحسب التعليمات المثبتة على العبوة.	لأخذ الكمية المناسبة مع الحجم المطلوب تحضيره.
٢.	اذب المسحوق الموزون في الكمية المطلوبة من الماء المقطر بالتحريك والتسخين وتأكد من pH.	للتأكد من توافق pH الواقع بما هو مكتوب على العبوة .
٣.	احكم اغلاق القارورة وضعها في جهاز المبخرة autoclave لمدة ١٥ دقيقة تحت ضغط ١٥ باوند/انش ^٢ ودرجة حرارة ١٢١م.	للتعقيم
٤.	اخرج القارورة وانتظر قليلا حتى تبرد (٥٠-٥٥م).	لامساكها بدون اذى لليد ولمنع اسالة اطباق بتري البلاستيكية عند الصب فيها.
٥.	حضر طاولة نظيفة ومطهرة بالكحول او غيره وبين لهبين مشتعلين من لهب بنسون رتب اطباق بتري المعقمة وابدأ في الصب.	منع التلوث ثم الشروع بالصب.
٦.	تخلص من فقاعات الهواء في الطبق	لأن وجود الفقاعات يشوه

	بتعريضها للهب بشكل مباشر.	المنظر ويعيق انتظام خطوط الزراعة .
٧.	لا تطلق الاطباق بل وضع الغطاء على حافة الطبق حتى يتصلب الوسط (يمكن تفحص ذلك عن طريق تحريك الطبق باتجاه اليمين واليسار فان لم يتحرك الوسط دل ذلك على تصلبه).	منع تكثف البخار على غطاء الطبق.
٨.	اختر عددا قليلا من الاطباق ٢-٣ عشوائيا وضعها في الحاضنة لليوم التالي للتأكد من عدم تلوثها.	للتحقق من نجاح عملية التعقيم

الكفاية العملية - ١٠ -

زراعة البكتيريا بطريقة التخطيط للحصول على مستعمرات منفردة (نمو نقي)

Streaking Method

الهدف :

١. ان يكون الطالب قادراً على اتقان خطوات زراعة البكتيريا بطريقة التخطيط .
٢. الحصول على مستعمرات منفردة .
٣. الحصول على نمو نقي .

المبدأ:

يعتمد على نشر كمية محددة من النمو على مساحات كبيرة وهذا يقود إلى تفريق الخلايا وبالتالي ظهور مستعمرات منفردة .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- النمو البكتيري
- وسط زراعي في طبق بتري .
- حاضنة
- سلك الحقن
- لهب بنسون .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	خذ النمو المراد زراعته على حلقة السلك المعقم البارد Wireloop وعلى طبق الوسط المناسب لامتصاص الحلقة لسطح الوسط بلطف ثم مرره على شكل خط مستقيم حتى يصل الى طرف الطبق ليشكل مثل وتر الدائرة.	لنشر النمو على طول خطوط الزراعة.
٢.	ارفع حلقة السلك عن سطح الوسط واعمل خطاً ثانياً موازياً للاول ثم ثالث (يمكن ان نسمي الخطوط الثلاثة بمنطقة التخطيط الاولى).	لتخفيف النمو عن طريق نشره .
٣.	احرق حلقة السلك واسمح لها بان تبرد ثم من نهاية خطوط منطقة التخطيط الاولى مرر حلقة السلك بشكل عمودي على الخطوط الاولى وكرر العملية ثلاث مرات (منطقة التخطيط الثانية).	لتخفيف النمو عن طريق نشره .
٤.	احرق حلقة السلك وبردها ثم كرر العملية كما في الخطوة ٣ .	مزيداً من تخفيف النمو .

٥.	احرق حلقة السلك ثم غط الطبق وضعه في الحاضنة لليوم التالي .	منع التلوث والحضائنة لتزويد البكتيريا بالظروف المناسبة .
٦.	تفحص الطبق في اليوم التالي ستجد ان منطقة التخطيط الثالثة تحتوي على مستعمرات منفردة.	ملاحظة النتيجة وتعتبر المنطقة الثالثة أعلى منطقة تخفيف .
٧.	اذا كان هناك اكثر من نوع من المستعمرات انقل كل نوع الى طبق جديد بالتخطيط واحضنه لليوم التالي.	للحصول على نمو نقي.

الكفاية العملية - ١١ -

زراعة البكتيريا بطريقة الصب للحصول على نمو نقي

The Pour Plate Technique

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على القيام بإجراءات الحصول على نمو نقي بطريقة الصب.

المبدأ :

يعتمد على وضع البكتيريا المراد عزلها في وسط صلب في حالة سيولة ومزجها جيدا ثم صبها في أطباق فارغة بعد القيام بعملية تخفيف متسلسل للنمو .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- وسط زراعي مناسب
- ستك حقن .
- قلم وسم .
- أنابيب اختبار معقمة .
- أطباق بستري معقمة .
- حاضنة .

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	وزع الوسط الزراعي المناسب الصلب في حالة سيولة بدرجة لا تتعدى ٤٥م في أنابيب اختبار وبأحجام متساوية.	
٢.	انقل عينة حقنة سلك التلقيح من النمو الى الأنبوب الاول.	اول خطوات التخفيف والحقن.
٣.	امزج جيدا ثم انقل عينة حلقة سلك التلقيح من الأنبوب الاول الى الأنبوب الثاني ثم الى الثالث وهكذا حتى الأنبوب الخامس.	عملية تخفيف كثافة النمو.
٤.	صب محتويات كل أنبوب في طبق بستري موسوم وانتظر حتى تتصلب .	لمشاهدة المستعمرات النامية المنفردة على سطح الطبق وسهولة التقاطها فيما بعد .
٥.	ضع الاطباق في الحاضنة تحت درجة ٣٧م او أي درجة مناسبة ولمدة ٢٤ ساعة.	لاتمام الزراعة.
٦.	اخرج الاطباق من الحاضنة وتفحص في أي الاطباق توجد مستعمرات منفردة.	لمشاهدة النتيجة ومتابعة الحصول على نمو نقي .
٧.	إذا كان في الطبق أكثر من نوع من المستعمرات النقط مستعمرة واحدة من كل نوع وانتقله الى طبق خاص ثم اعد الحضانة لليوم التالي.	لاتمام الحصول على نمو نقي.

الكفلية العملية - ١٢ -

دراسة صفات المستعمرات البكتيرية

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على وصف المستعمرات البكتيرية النامية.

المبدأ:

يعتمد على دراسة المستعمرة من حيث الشكل والحجم واللون والقوام والزوجة وتحلل الدم وشكل الحواف .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- وسط زراعي محدد يحوي نموا بكتيريا نقييا.
- سلك الحقن Wire-loop

الرقم	المعطيات	المبررات
١.	انظر الى الوسط الزراعي وحدد نوعه.	لأن صفات المستعمرات تختلف باختلاف نوع الوسط الزراعي المستخدم.
٢.	صف حجم المستعمرات صغيرا او متوسطا او كبيرا.	أخذ صفة الحجم .
٣.	صف شكل المستعمرات دائريا ام غير دائري.	أخذ صفة الشكل .
٤.	صف حواف المستعمرات منتظمة ام غير منتظمة ام منشورية.	أخذ صفة الحافة .
٥.	صف سطح المستعمرات هل هو ناعم ام خشن، املس ام متجمد، جاف ام رطب، لامع ام مطفي.	أخذ صفة السطح .
٦.	صف ارتفاع المستعمرات هل هي منبسطة ام محدبة ام مقيبة.	أخذ صفة الارتفاع .
٧.	المنس سطح المستعمرة بوساطة سلك الحقن وارفعه للأعلى، فإذا تكون خيط فهي مخاطية وإلا فلا .	أخذ صفة المخاطية .
٨.	صف لون المستعمرات هل هي حمراء ام وردية ام خضراء ام سوداء ام بيضاء ام رمادية ... الخ.	أخذ صفة اللون .
٩.	صف نوع تحلل الدم الناتج اذا كان الوسط Blood Agar هل هو من النوع α ام β ام δ .	أخذ صفة نوع تحلل الدم

الكفاية العملية - ١٣ -

عد الخلايا البكتيرية في العينات السائلة على الأوساط الصلبة

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على القيام بعد الخلايا البكتيرية في العينات السائلة مثل الماء والحليب واي مسائل آخر .

المبدأ :

يعتمد على زراعة حجم محدد من العينة المتجانسة وعد المستعمرات النامية بعد فترة الحضانة لتمثل كل مستعمرة نامية خلية بكتيرية في العينة الأصلية بحيث يسوى العدد النهائي لكل ملل من العينة .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- العينة
- وسط سائل او محلول ملحي طبيعي معقم .
- وسط صلب مناسب مثل B.A و E.M.B.
- سلك الحقن Wire-loop
- حاضنة

الرقم	الخطوات	المجربات
١.	احقن ١ ملل من العينة السائلة في انبوب يحوي ٩ ملل من الوسط السائل او N.S معقم ثم امزج.	تخفيف ١٠:١
٢.	انقل ٠,١ ملل من الأنبوب الى سطح وسط صلب مناسب ثم انشر بوساطة سلك الحقن Wireloop وبطريقة التخطيط.	حقن الوسط بالعينة.
٣.	احضن الطبق في الحاضنة تحت ٣٧ م لمدة ٢٤ ساعة.	تزويدها بالظروف والوقت اللازم للنمو.
٤.	عد المستعمرات النامية بالعين المجردة ثم اضرب العدد في الرقم ١٠٠ فتحصل على عدد الخلايا في ١ ملل من العينة.	كل مستعمرة نامية تمثل خلية في العينة ، كانت نسبة التخفيف ١٠:١ ثم اخذ ٠,١ ملل فتصبح نسبة التخفيف ١٠٠:١.

فحص حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية حسب طريقة

Bauer-Kirby

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على اجراء فحص حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية واخذ القراءة وكتابة التقرير للطبيب.

المبدأ:

يعتمد على مدى قدرة المضاد الحيوي على قتل البكتيريا سواء بالتنشيط والقتل وكلاهما يؤدي إلى موت البكتيريا وبالتالي نستطيع تصنيف البكتيريا لتأثرها بالمضاد الحيوي سواء التحسسية أم الوسطية أو المقاومة.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- وسط حساسية Sensitivity Agar
- انيوب يحيوي ؛ مليل
- Trypticase soy broth
- انبكتيريا المراد فحصها
- محلول معياري لكبريتات الباريوم
- اقراص مختلفة من المضادات الحيوية
- ملقط .
- ماسحة قطنية Cotton swab
- ممطرة
- جدول Bauer-Kirby
- حاضنة

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	انقل ٥ مستعمرات من النمو انقسي المراد فحصه الى انيوب يحيوي ؛ مليل من Trypticase soy broth	لتنشيط النمو
٢.	ضع الانبوب في الحاضنة تحت درجة ٣٧ لمدة ٢-٥ ساعات .	لانتاج معلق متوسط العكورة
٣.	قارن انيوب النمو مع الانبوب المعياري لمحلول كبريتات الباريوم من حيث العكورة.	لمعايرة كثافة النمو المعني .
٤.	خفف بالماء المعقم او المحلول الملحي المعقم اذا كانت كثافة النمو اعلى من المحلول المعياري او مدد فترة الحضانة اذا كانت اقل.	لضبط كثافة النمو

٥.	اغمر الماسحة القطنية Cotton swab في انبوب النمو ولفه على جدار الأنبوب.	ليجمل عددا من البكتيريا والتخلص من الزائد.
٦.	انثر ما علق على الماسحة القطنية من نمو على سطح طبق الوسط Sensitivity Agar.	لتوزيع النمو على كامل سطح الطبق بشكل متجانس.
٧.	انتظر لمدة ٣-٥ دقائق ثم ضع اقراص المضادات الحيوية على سطح الطبق بشكل منتظم مع ضغط خفيف عليها بوساطة الملقط المعقم.	حتى يجف سطح الطبق ولتجنب تقاطع حلقات القتل ومنع تحريك الاقراص من مكانها.
٨.	ضع الطبق في الحاضنة تحت درجة ٣٧م لمدة ٢٤ ساعة.	للسماح للبكتيريا بالنمو.
٩.	في اليوم التالي خذ قياس قطر حلقات قتل البكتيريا حول الاقراص بوساطة المسطرة.	لمعرفة قطر حلقة القتل حول قرص المضاد الحيوي.
١٠.	قارن اقطار حلقات القتل مع الجدول المعياري.	للحكم على أن المضاد قاتل أم متوسط القتل أم غير قاتل .
١١.	اكتب التقرير كما يلي : ١. البكتيريا المعزولة حساسة لـ : ١. ٢. ٣. ١. ومقاومة لـ : ١. ٢. ٣.	حتى يعلم الطبيب أنواع المضادات الحيوية المستخدمة في الفحص كاملة .

الكفاية العملية - ١٥ -

قياس تركيز الحد الأدنى المثبط (القاتل) للمضاد الحيوي (MIC)

Minimum Inhibitory Conc

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على القيام بإجراءات قياس تركيز الحد الأدنى للمضاد الحيوي القاتل للبكتيريا.

المبدأ :

عمل تراكيز مختلفة للمضاد الحيوي موضوع البحث وإضافة كمية ثابتة من النمو البكتيري في وسط مناسب لنموه ثم مشاهدة أقل التراكيز التي تمنع البكتيريا من النمو .

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- أنابيب اختبار معقمة.
- ماصات معقمة.
- أطباق بتري معقمة.
- المضاد الحيوي موضوع الدراسة.
- محاليل تخفيف معقمة مثل N.S
- وسط زراعي معقم صلب في حالة سيولة.
- حاضنة.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	حضر تخفيف متدرج للمضاد الحيوي المعنسي في أنابيب اختبار معقمة وبمحلول وأدوات معقمة مثل ١:١٠٠ ، ١:١٠٠٠ ، ١:١٠٠٠٠ وهكذا أو ١:١٠ ، ١:٢٠ ، ١:٤٠ ، وهكذا .	للحصول على تراكيز متسلسلة من المصاد الحيوي.
٢.	أضف إلى الأنابيب كمية ثابتة من الوسط الزراعي ١٥-٢٠ ملل .	يستخدم في تنمية البكتيريا.
٣.	أضف كمية ثابتة من معلق البكتيريا النقية إلى الأنابيب.	لمشاهدة تأثير المضاد الحيوي على نمو البكتيريا.
٤.	امزج جيدا ثم صب محتوى كل أنبوب في طبق بتري فارغ معقم وانتظر حتى يتصلب الوسط.	للحصول على التجانس ومسهولة تداول الأطباق بعد تصلب الوسط.
٥.	ضع الأطباق في الحاضنة لليوم التالي.	لتهيئة الظروف الفيزيائية لنمو البكتيريا.
٦.	اقرأ النتائج بملاحظة عدم ظهور نمو في الطبق المحتوى على أقل تركيز وبذلك يكون هذا التركيز هو MIC للمضاد الحيوي المستخدم.	سيظهر نمو في الأطباق المحتوية على التراكيز المنخفضة من المضاد الحيوي تدريجيا حتى نصل إلى التركيز الأقل الذي لا يظهر عليه نمو بكتيري.

الكفاية العملية - ١٦ -

صبغ المحفظة (Capsule) والأبواغ (Spores)

الهدف :

١. أن يصبح الطالب قادرا على القيام بإجراءات صبغ المحفظة والأبواغ .
٢. أن يصبح الطالب قادرا على الكشف عن المحفظة والأبواغ والتعرف عليها .

المبدأ:

يعتمد على صبغ الخلية وهي محاطة بطبقة شفافة من المحفظة، وكذلك صبغ الأبواغ بصبغة قوية مثل Malachite green مسخرة ثم صبغ باقي أجزاء الخلية بالصبغة البديلة مثل Safranin فتظهر الأبواغ باللون الأخضر وباقي أجزاء الخلية باللون الأحمر .

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- نمو نقي
- شرائح زجاجية
- صبغة malachite green
- مصدر لهب خفيف (ماسحة قطنية مبللة بالكحول
- سلك الحقن
- صبغة الأيوسين
- صبغة Sarranin
- زيت غمر

الرقم	الخطوات	المبررات
	أ. صبغ المحفظة :	
١.	ضع قطرة من صبغة الأيوسين على طرف شريحة زجاجية نظيفة ثم أضف إليها قليلا من النمو البكتيري وامزجها بوساطة سلك الحقن.	تحضير معلق النمو البكتيري .
٢.	ضع حافة شريحة زجاجية أخرى على طرف قطرة المعلق وبزاوية ٤٥ درجة ، اسحب الشريحة باتجاه طرف الشريحة الآخر .	تحضير اللطخة مع الصبغة .
٣.	جفف في الهواء وضع قطرة زيت غمر وشاهدها مجهريا تحت العدسة الزيتية .	لتفحصها مجهريا .
٤.	إن وجود طبقة شفافة بدون لون حول الخلية ذات اللون الأحمر يدل على وجود المحفظة والعكس صحيح .	لاخذ النتيجة .
	ب. صبغ الأبواغ :	
١.	حضر لطخة النمو المعني وجففها وثبتها .	تحضير اللطخة الثابتة .
٢.	أغمر اللطخة بصبغة Malachite green واشعل تحتها ماسحة قطنية مبللة بالكحول حتى يتصاعد على بخار من الصبغة، اهدد اللهب وانتظر لمدة ٥ دقائق .	لأنها صبغة قوية والتسخين لفتح مسلمات في جدران البوغ لاخترق الصبغة إلى داخل الأبواغ .

٣.	اغسل الشريحة بماء الحنفية الجاري والهادئ غسلا جيدا .	للتخلص من بقايا الصبغة.
٤.	أغمر الشريحة بالصبغة البديلة Safranin لمدة ٣٠ ثانية .	لصبغ أجزاء الخلية الأخرى غير الأبواغ.
٥.	اغسل الشريحة جيدا بماء الحنفية الهادئ ثم جفف .	للتخلص من بقايا الصبغة.
٦.	ضع قطرة زيت غمر وشاهدها تحت المجهر مستخدما العدسة الزيتية. إن ظهور أجسام بيضاوية بلون أخضر داخل أو خارج الخلايا التي تظهر باللون الأحمر دليل وجود الأبواغ .	لأخذ النتيجة والبحث عن وجود الأبواغ .

الفصل الأول

أساسيات علم الأحياء الدقيقة

الوحدة الثانية: علم الأحياء الدقيقة الطبي

الكفاية العملية - ١٧ -

دراسة زراعة نقية للبكتيريا وتشمل جميع انواع البكتيريا مثل

Bacillus, E.coli , Neisseria, Strep, Staph, Klebsiella, الخ...

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على القيام بتشخيص البكتيريا النقية من خلال :

- أ- الصفات الشكلية
- ب- الصفات الزراعية
- ج- الصفات الكيميائية الحيوية
- د- الصفات المصلية.

المبدأ :

تعتمد دراسة الزراعة النقية على رصد الصفات الشكلية والزراعية والكيميائية الحيوية والمصلية حتى تدعم كل واحدة منها الأخرى للوصول إلى تشخيص نوع البكتيريا موضوع البحث .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- مواد طريقة جرام في الصبغ
- مواد تجربة القطرة المعلقة
- مواد صبغ المحفظة والابواغ
- اوساط زراعية مختلفة باختلاف نوع البكتيريا موضوع الدراسة.
- اوساط سكرية و اوساط خاصة ببعض الفحوصات المستخدمة للتشخيص.
- امصال تحوي اجساما مضادة متخصصة ضد البكتيريا موضوع الدراسة.
- حاضنة .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	أ-الصفات الشكلية: حضر لطفة على شريحة واصبغها بطريقة جرام.	لمعرفة تفاعلها مع صبغة جرام والشكل والترتيب.
٢.	تفحص الحركة بوساطة تقنية القطرة المعلقة.	
٣.	حضر لطفة واصبغها بالايوسين.	لمشاهدة المحفظة Capsule
٤.	حضر لطفة واصبغها بـ Malachite green	لمشاهدة الابواغ Spores

<p>ب-الصفات الزراعية:</p> <p>١. أحقن النمو على اوساط مختلفة مثل EMB, B.A, Macc. ويعتمد ذلك على نوع البكتيريا موضوع الدراسة.</p> <p>٢. ضع في الحاضنة تحت درجة ٣٧م لمدة ٢٤-٤٨ ساعة.</p> <p>٣. خذ الصفات الزراعية وسجلها.</p>	<p>١. لأخذ صفات المستعمرات على الأوساط المختلفة</p>
<p>ج-الصفات الكيميائية الحيوية:</p> <p>١. أحقن البكتيريا موضوع الدراسة في اوساط سكرية مختلفة.</p> <p>٢. اجر التجارب الخاصة والمستخدمة في تشخيص البكتيريا مثل Citrate. Urease, Catalase ... الخ.</p>	<p>١. لمعرفة السكريات التي تخمر بفعل هذه البكتيريا.</p> <p>٢. لتساعد على التشخيص.</p>
<p>د-الصفات المصلية:</p> <p>١. فاعل البكتيريا موضوع الدراسة مع اجسام مضادة متخصصة لها سواء على الثريخة او في انبواب الاختبار ولاحظ التفاعلات الايجابية الناتجة عن ذلك.</p>	<p>تساعد في تشخيص البكتيريا</p>

الكفاية العملية - ١٨ -

الكشف عن الفطريات بالتحضير المباشر من العينة أو من النمو

المبدأ:

يعتمد على استخدام محلول هيدروكسيد الصوديوم أو البوتاسيوم كمحلول لعمل معلق فطري يلعب دور المحلول الملحي الطبيعي في حالة البكتيريا.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- أداة حادة الحافة مثل شفرة طبية أو شريحة زجاجية.
- شرائح زجاجية وأغطية الشرائح.
- سلك الحقن Wire Loop.
- نمو عفن و/ أو خميرة .
- مجهر .
- ملقط .
- محلول NaOH KOH ١٥-١٠

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	اكشط المنطقة المصابة من الجلد بوساطة الشفرة أو حافة شريحة أو قص الشعرة أو الأظفر المصاب واجمع ما ينتج عن ذلك في طبق بتري أو على شريحة زجاجية و / أو خذ بوساطة سلك الحقن قليلا من نمو الخميرة و/ أو خذ بوساطة ملقط معقم قليلا من نمو العفن .	جمع العينة .
٢.	أضف ما جمعته في الخطوة (١) إلى قطرة من محلول KOH ١٠-١٥% وامزج قليلا وبلطف .	تحضير المعلق .
٣.	غط قطرة المعلق بغطاء الشريحة وتغصن تحت المجهر مستخدما العدسات الجافة .	للحفظ والحصول على سمك ثابت للمعلق والملاحظة.
٤.	ابحث عن وجود الغصينات الفطرية mycelium وبخاصة في العينات المباشرة وعسن الخميرة والغصينات في عينات النمو .	قراءة النتيجة .
٥.	قارن ما تراه تحت المجهر بلوحة توضح أشكال الغصينات والخميرة مقرونة بأسمائها.	لتشخيص النوع .

دراسة زراعة نقية للفن وخميرة Candida

الهدف:

- أن يكون الطالب قادرا على القيام بإجراءات دراسة نمو نقي للفن وخميرة Candida من حيث:
- الصفات الشكلية.
 - الصفات الزراعية.
 - الصفات الكيميائية الحيوية.

المبدأ:

يعتمد على معرفة الصفات الشكلية والزراعية والكيميائية الحيوية وفحوصات خاصة أخرى .

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة:-

- مواد طريقة جرام في الصبغ.
- شرائح زجاجية وأغطية شرائح.
- NaoH أو KOH
- أوساط زراعية Chrom-Agar و SDA
- أوساط سكرية.
- مواد تحربة الأنبوب انجرومسي
- Germ tube test
- ملك الحقن.

الوقت	الخطوات	المبررات
١.	الخميرة Yeast: أ. الصفات الشكلية:	لمشاهدة شكل وحجم الخلايا ووجود البراعم .
٢.	حضر معلق من نمو الخميرة مع ١٠-١٥% KOH أو NaoH وغطه بغطاء الشريحة. تفحص الشكل تحت العدسة ١٠ ثم ٤٠	لاحظ وجود خلايا بيضاوية كبيرة مع أو بدون براعم.
٣.	حضر لطفة على شريحة واصبغها بطريقة جرام. وتفحص تحت العدسة الزيتية .	لمعرفة تفاعلها مع صبغة جرام حيث تظهر ايجابية.
١.	ب. الصفات الزراعية:- أحقن النمو موضوع الدراسة على الأوساط SDA-Chrom, Agar, Blood Agar بطريقة التخطيط واحضن تحت درجة حرارة الغرفة أو ٣٧ مئوية لليوم التالي.	للحصول على مستعمرات منفردة ودراسة صفات المستعمرات على كل وسط. لأن Candida albicans
٢.	خذ الصفات الزراعية وسجلها ولاحظ لون المستعمرات على Agar-chrom للتمييز بين أنواع Candida المختلفة.	تعطي صفات مستعمرات مميزة على هذه الأوساط يسهل بها تشخيصها والتعرف عليها.

	جـ. الصفات الكيميائية الحيوية: الحقن النمو موضوع الدراسة في لوساط سكرية مختلفة وسجل نتائجها.	لمعرفة السكريات التي تخمر بفعل الـ Candida
	د. تجارب خاصة: إجر تجربة الأنبوب الجرثومي	لتمييز Candida albicans في حالة ظهور النتيجة ايجابية.
١.	فطر العفن (molds) fungi - الصفات الشكلية: حضر معلق للعفن بأخذ جزء من الفصينات بوساطة ملقط معقم أو دبوس وضعه على قطرة من ١٠-١٥% NaOH, KOH وغطه بغطاء الشريحة وشاهد تحت المجهر مستخدماً العدسة ١٠ ثم ٤٠	لمشاهدة شكل وترتيب الأبواغ الفطرية والفصيات.
٢.	قارن ما تراه تحت المجهر بالرسومات واللوحات الخاصة بالفطريات.	وللتعرف على نوع الفطر المراد تشخيصه.
١.	- الصفات الزراعية:- خذ جزء من الفصينات وضعه على سطح وسط صلب مثل SDA مصبوب في أنبوب	الحقن في الوسط المناسب لتوفير شروط النمو.
٢.	اختيار.	
٣.	احكم إغلاق الأنبوب واحضنه تحت درجة حرارة الغرفة لعدة أيام.	لمنع حدوث جفاف في الوسط ومنع تلوثه
٤.	راقب نمو الفطر وسجل صفاته الزراعية من حيث شكل النمو ولونه. قارن ما تراه في أنبوب الوسط بالرسومات واللوحات الخاصة بالفطريات.	للتعرف على نوع الفطر المراد تشخيصه من خلال صفاته الزراعية.

الكفاية العملية - ٢٠ -

اجراء تجربة الانبوب الجرثومي Germ Tube Test لتشخيص

(C.albicans)

الهدف :

١. ان يكون الطالب قادرا على القيام بخطوات تجربة الانبوب الجرثومي .
٢. ان يكون الطالب قادرا على التحقق من ان الخميرة الفامية هي Germ (c.albicans) Tube Test

المبدأ:

نتج سلالات (SNACIBLAC). نداء قريبا هذه ايلاذ نـمـايموثرجـاـبـوينا (وضعها في وسط سائل تحت درجة ٣٥ م لمدة ٣ ساعات .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- نمو الخميرة موضوع الفحص
- شريحة زجاجية مع غطاء شريحة
- انبوب اختبار
- حاضنة
- قطارة
- مجهر
- مصمل حديث

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	ازرع الخميرة على وسط يحوي البيبتون واحضن لليوم التالي.	تلحصول على نمو حديث.
٢.	خذ ٠.٥ ملل من النمو في الوسط السائل في انبوب اختبار واضف اليه ١ ملل من مصمل انسان او حصان محضر حديثا.	لجمع المتفاعلين مع بعضهما البعض.
٣.	احضن الانبوب تحت درجة ٣٥-٣٧ م.	لاعطاء الخميرة ظروف مناسبة لتكوين انبوب جرثومي.
٤.	ضع قطرة من محتوى الانبوب على شريحة زجاجية نظيفة بعد كل نصف ساعة وتحصنها مجهريا.	عمل تحضير رطب للفحص.
٥.	لاحظ تكون انبوب جرثومي منبثق من خلية الخميرة.	ليدل ذلك على ان الخميرة هي c.albicans

الكفاية العملية - ٢١ -

طريقة Ziehl- Neelsen في الصبغ

الهدف :

١. ان يكون الطالب قادرا على القيام بـ :
١. صبغ العينات بطريقة Z.N.
٢. تشخيص عصيات الملل او العصيات المقاومة للحامض
(AFB) Acid Fast Bacilli .

المبدأ:

من المعنوم ان عصيات الملل او AFB لا تصبغ بسهولة واذا صبغت فأنسه من الصعب ازالة الصبغة منها لذلك تعرض اللطاخة البكتيرية للحرارة حتى تتمكن الصبغة من الاختراق حتى تصل جدار الخلية ثم يزال مصدر الحرارة، وبذلك تغلق المسامات الدهنية على الصبغة الداخلة وهذا لا يحدث مع البكتيريا غير المقاومة للحامض Non-AFB بحيث ان اضافة الحامض سيسهل الصبغة من البكتيريا غير المقاومة فقط ولذلك تتلون الاخيرة بلون الصبغة البديلة (المضادة) Counterstain وتتلون الاولى (AFB) بلون صبغة Z.N. الزهرية.

الاجهزة والمواد والاموات اللازمة :

- صبغة Z.N. وهي عبارة عن Carbol Fuchsin
- حامض كبريتيك تركيز ٢٠%
- كحول ايثيلي تركيز ٩٥%
- صبغة مضادة Counter Stain مثل الميثيل الأزرق Methylene blue
- شرائح زجاجية وسلك الحقن
- ومحلول ملحي طبيعي
- لهب زيت غمر
- مجهر
- ورق ترشيع

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	حضر لطخة البكتيرية على شريحة زجاجية نظيفة وجففها وثبتها.	لتجهيز البكتيريا للصبغ
٢.	اغمر الشريحة في صبغة Z.N. وصفه وسخن تحت الشريحة حتى يتصاعد البخار، ثم انتظر لمدة خمس دقائق .	التسخين لفتح مسامات فمي الطبقات الدهنية لكي تتمكن الصبغة من الدخول .
٣.	اغسل الشريحة بماء الحنفية	للتخلص من الصبغة الباقية.

	الجاري الهاديء.	
٤.	اغمر الشريحة في ٢٠% حامض كبريتيك لمدة دقيقة تقريبا حتى يتغير اللون الاحمر الى بنفي مصفر.	لازالة الصبغة من البكتيريا غير المقاومة للحامض -Non AFB.
٥.	اغسل الشريحة بالماء و اغمر الشريحة في الحامض مرة اخرى، كرر العملية حتى تصبح اللطخة ذات لون زهري فاتح.	لاعطاء فرصة لحامض جديد للقيام بازالة الصبغة والتأكد على هذه الخطوة.
٦.	اغسل الشريحة بماء الحنفية الهاديء جيدا.	للتخلص من بقايا الحامض
٧.	اغمر الشريحة في ٩٥% كحول ايثيلي لمدة دقيقتين .	خطوة تأكيدية لخطوة اضافية الحامض.
٨.	اغسل الشريحة جيدا بالماء ثم اغمرها في الصبغة البديلة ولمدة ١٥-٢٠ ثانية.	للتخلص من بقايا الكحول ثم لصبغ البكتيريا التي ازيلت الصبغة منها بوساطة مزيلات الاصباغ المستخدمة (الحامض والكحول).
٩.	اغسل الشريحة وجففها بوساطة ورق ترشيع ثم اصف قطرة من زيت الغمر وشاهدها تحت المجهر مستخدما العدسة الزيتية .	للتخلص من بقايا الصبغة البديلة ثم للتخلص من الماء ثم لتجهيزها لاستخدام العدسة الزيتية في المجهر .
١٠.	ابحث عن عصيات رفيعة وطويلة بلون احمر لتسل على وجود AFB.	وجود العصيات الرفيعة الحمراء دلالة على وجود العصيات المقاومة للحامض سواء عصيات المل او غيرها.

الكفاية العملية - ٢٢ -

طريقة Neisser في الصبغ

الهدف :

- ان يكون الطالب قادرا على :
- ١. القيام بصبغ البكتيريا بطريقة Neisser
- ٢. تمييز حببيات الدفتيريا.

المبدأ :

تتقبل عصيات الدفتيريا اللون الاحمر من محلول Neutral red بينما لا تتقبله حببيات الدفتيريا وانما تتقبل صبغة الميثيل الازرق Methylene blue وتظهر باللون الازرق داخل الخلايا العسوية للدفتيريا.

الاجهزة والمواد والاموات اللازمة :

- محلول Neutral red
- مجهر
- زيت غمر
- ورق ترشيع
- شرائح زجاجية ومحلول ملحي طبيعي
- سلك الحقن Wire loop
- صبغة الميثيل الازرق Neisser's Methylene blue
- محلول اليود

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	حضر اللوحة البكتيرية وجففها وثبتها.	لتجهيز البكتيريا للصبغ
٢.	اغمر الشريحة في صبغة الميثيل الازرق لمدة نقيقتين ثلاث دقائق.	لصبغ حببيات الدفتيريا
٣.	اغسل بمحلول اليود المخفف .	لثبيت الصبغة السابقة.
٤.	اغسل بالماء	للتخلص من بقايا المحاليل
٥.	اغمر الشريحة في محلول Neutral red ولمدة ٣ دقائق.	لصبغ اجزاء الخلية المتبقية (الخلفية) أي صبغة بديلة.
٦.	اغسل الشريحة وجففها بوساطة ورق الترشيح .	للتخلص من بقايا الصبغة ثم الماء.
٧.	ضع قطرة زيت غمر وشاهدها تحت المجهر مستخدما العدسة الزيتية.	لتجهيز الشريحة لاستخدامها تحت المجهر .
٨.	لاحظ وجود حببيات بلون ازرق داخل الخلية الحمراء.	وجود الحببيات الزرقاء دلالة على ان البكتيريا هي عصيات الدفتيريا.

التعرف على انواع الاوساط الزراعية المختلفة المحضرة

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على تمييز انواع الاوساط الزراعية الصلبة المحضرة مجرد النظر اليها كلما امكن ذلك ويشمل :

Sensitivity Agar, EMB, MacConkey's Agar, Nutrient Agar, Blood Agar, TCBS, DCA, TSI, MSA, SDA, Chocolate Agar

المبدأ :

يعتمد ذلك على المعرفة الاكيدة لمظهر ونون كنز وسط يمكن التعرف عليه من خلال ذلك.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- اوساط زراعية صلبة محضرة ومصبوبة في اضباق بستري او انبوب اختبار.
- قلم وسم .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	حضّر جميع الاوساط الزراعية المذكورة في الهدف حسب تعليمات الشركة الصانعة واكتب على الاطباق اسماء الاوساط .	تمهيدا للتدرب على تمييزها
٢.	امعن النظر في اطباق كنز نوع من الاوساط المحضرة لتمييز مظهر كل نوع.	لتتعرف على مميزاتها من حيث اللون والمظهر العام.
٣.	اخف اسم الوسط على الطبق ثم حاول التعرف على كل نوع.	لاجراء اختبار .
٤.	اكتشف الاسم حتى تتحقق من صحة تخمينك.	حتى تتحقق من صحة تخمينك
٥.	كرر العملية أكثر من مرة.	حتى تصبح الاوساط مألوفة اليت.

الكفافية العملية - ٢٤ -

اجراء فحص تخمير السكريات مثل (الجلوكوز والسكروز والمالتوز والمانتول

Sugars Fermentation (الزايلوز... الخ).

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على اجراء فحص تخمير السكريات وقراءة النتائج.

المبدأ :

تقوم البكتيريا بتحطيم بعض السكريات وإنتاج أحماض وغازات قادرة على تغيير الوسط وتغيير لون الكاشف ويعتمد ذلك على إنتاج البكتيريا للإنزيمات اللازمة للقيام بعملية التحطيم (الهضم) هذه.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- اوساط سكرية مختلفة (وسط زراعي صلب + سكر + كاشف).
- سلك حقن Wireloop
- بكتيريا الفحص
- حاضنة.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	احقن انابيب السكريات المختلفة بالنمو البكتيري المراد فحصه بوساطة سلك الحقن بطريقة الطعن Stab	لفحص مقدرة البكتيريا على تخمير السكر.
٢.	ضع الانابيب في الحاضنة لمدة ٢٤ ساعة تحت ٣٧م.	لاعطاء الاجواء والوقت المناسبين للنمو وممارسة النشاط.
٣.	تفحص انابيب السكريات من حيث تغيير لون الكاشف ليدل على النتيجة الايجابية.	تغيير لون الكاشف بسبب تخمير السكر من قبل البكتيريا وإنتاج الحامض.
٤.	تفحص صعود الوسط الصلب الى اعلى الأنبوب.	ليدل على إنتاج الغاز.

الكفاية العملية - ٢٥ -

Methyle Red Test فحص

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على اجراء فحص MR وقراءة النتيجة.

المبدأ :

تظهر هذه التجربة قدرة البكتيريا على تخمير الجلوكوز وانتاج كمية من الحامض كافية لتغيير لون الكاشف MR حيث يصل الـ PH إلى أقل من ٤,٥

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- الوسط المائل Glucose phosphate peptone water
- النمو المراد فحصه.
- منق الحقن Wire-loop
- حاضنة
- محلول الكشف Methyl Red مع قطارة.

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	احقن الوسط المائل الخاص بالفحص بالنمو الياتع Young Culture.	لأنه نمو نشيط قادر على اظهار صفاته بشكل جيد.
٢.	ضع في الحاضنة تحت درجة ٣٧م لمدة ٤٨ ساعة .	لاعطى فترة تخمير البكتيريا للجلوكوز .
٣.	اضف خمس قطرات من محلول Methyl Red وامزج جيدا.	للكشف عن الحامض الناتج عن التخمير .
٤.	خذ النتيجة حالا حيث انه اذا ظهر اللون الاحمر اللامع دل على النتيجة الايجابية.	تغير لون الكاشف الى اللون الاحمر في وجود الحامض والى اللون الاصفر في عدم وجود الحامض .
٥.	اما اذا ظهر اللون الاصفر فتكون النتيجة سلبية.	لاعطى فرصة اخرى لمزيد من تخمير البكتيريا للجلوكوز وانتاج كمية كافية من الحامض لاظهار نتيجة ايجابية.

الكفاية العملية - ٢٦ -

Proskauer Test (V.P.)-Voges اجراء فحص

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على اجراء فحص VP وقراءة النتيجة.

المبدأ :

تظهر هذه التجربة قدرة البكتيريا على تخمير الجلوكوز وانتاج Acetyl methyl Carbinol و 2,3 Butylene Glycol والتي تنتج لونا زهريا أو أحمر في وجود Alpha-naphthol في وسط قاعدي . ان انتاج هذين المركبين يكون نتيجة لعدم تراكم كميات كافية من الحامض خلال التخمير قادرة على تغيير لون الكاشف MR، ولذلك فإن نتائج فحصي MR و VP ستكون متعايرة .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

• وسط سائل Glucose phosphate peptone water

• النمو المراد فحصه

• سلك الحقن Wire-loop

• حاضنة

• محلول الكشف ٤٠% محلول KOH و ٥% α -naphthol في إيثانول مركز.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	احقن الوسط السائل الخاص بالفحص بالنمو اليانغ Young Culture.	لانه نمو نشيط قادر على اظهار صفاته بشكل جيد.
٢.	احضن تحت ٣٧م او ٣٠م لمدة ٤٨ ساعة.	لاعطاء فترة لتخمير البكتيريا للجلوكوز .
٣.	اضف إلى انبوب الفحص ١ ملل من ٤٠% محلول هيدروكسيد البوتاسيوم و ٣ ملل من ٥% من محلول α -naphthol في إيثانول مركز.	للكشف عن وجود نواتج التخمير وهي: Acetyl Mehtyl Carbinol & 2,3 Butylene Glycol
٤.	اقرأ النتيجة، ان ظهور اللون الزهري خلال ٢-٥ دقائق يدل على النتيجة الإيجابية.	

الكفاية العملية - ٢٧ -

إجراء فحص Indole

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على إجراء فحص الـ Indole وقراءة النتيجة.

المبدأ :

تظهر هذه التجربة قدرة البكتيريا على تحليل الحامض ENAHPOTPYRT الأمينى وانتاج الاندول الذي سينتج لونا أحمرأ في وجود الألديهيد، يمكن استبدال محلول kovac بمحلول Ehrlich ككاشف .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- وسط سائل يحوي Tryptophane مثل Peptone water .
- سلك حقن Wire-loop .
- محلول كاشف Kovac
- حاضنة.
- قطارة.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	احقن الوسط بالبكتيريا المراد فحصها.	للتتبع بمراسلة النشاط الحيوي.
٢.	احضن لمدة ٤٨ ساعة تحت درجة ٣٧م.	لاعطاء فرصة مناسبة لتحويل البكتيريا للحامض الأمينى Tryptophane إلى Indole
٣.	اضف ٠.٥ مل من محلول kovac وحرك بلطف.	لكشف عن وجود Indole .
٤.	خذ النتيجة حيث ان ظهور اللون الاحمر دلالة على النتيجة الايجابية.	

اجراء فحص Catalase

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على اجراء فحص Catalase وقراءة النتيجة .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- انمو البكتيري المراد فحصه.
- محلول فوق اكسيد الهيدروجين.
- شريحة زجاجية.
- قطارة.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	ضع قطرة من محلول فوق اكسيد الهيدروجين H_2O_2 على شريحة زجاجية.	محلول كاشف.
٢.	خذ مستعمرة بكتيرية بوساطة مسلك انقن وضعها على قطرة المحلول.	للكشف عن انتاج البكتيريا لانزيم Catalase.
٣.	لاحظ ظهور فقاعات هواء فورا ليبدل على النتيجة الايجابية.	تحليل انزيم Catalase للمحلول يؤدي الى تصاعد فقاعات الاكسجين.

اجراء فحص Oxidase

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على اجراء فحص Oxidase وقراءة النتيجة.

المبدأ:

تظهر هذه التجربة قدرة البكتيريا على انتاج انزيم الـ indophenol tetramethyl p-phenylene diamine ويكون في النهاية مركب بنفسجي اللون وقد استخدمت هذه التجربة لتشخيص *pseudomonas* و *neisseria*.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- نمو بكتيري على وسط مناسب مثل Chocolate Agar.
- محلول Tetramethyl p-phenylene diamine
- قطارة

الرقم	الخطوات	المجربات
١.	اضف قطرة من ١% محلول Tetramethyl p-phenylene diamine على مستعمرات النمو المراد فحصها والمزروع على Chocolate Agar عادة.	محلول كاشف.
٢.	لاحظ ظهور اللون البنفسجي الداكن ليدل على النتيجة الايجابية.	انتاج البكتيريا لانزيم Oxidase - يقوم بأكسدة المحلول وتحويل اللون السي البنفسجي الداكن.

الكفاية العملية - ٣٠ -

اجراء فحص Citrate

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على اجراء فحص Citrate وقراءة النتيجة.

المبدأ:

تظهر هذه التجربة قدرة البكتيريا على الاستفادة من ETARTIC كمصدر وحيد للطاقة والنمو واصلاح الأمونيوم كمصدر وحيد للنيتروجين، ولأن التفاعل يحتاج إلى اكسجين يجب حقن البكتيريا على سطر وسط صلب في طبق بتري أو انبوب اختبار غير محكم الاغلاق، بدل تغيير اللون من الأخضر للأزرق على انتاج الامتيت acetate ومنتجات كربونات قاعدية أخرى .

الاجهزة والادوات والمواد اللازمة :

• Simmon's Citrate Agar

• مسلك الحقن Wire-loop

• حاضنة

• البكتيريا المراد فحصها.

الوقت	الخطوات	الملاحظات
١.	احقن الوسط الزراعي بالبكتيريا المعنية.	حتى تفحص قدرة البكتيريا على الاستفادة من Citrate كمصدر وحيد للنمو والطاقة.
٢.	ضع في الحاضنة تحت درجة ٣٧ م لمدة ٢٤-٩٦ ساعة.	لتزويد البكتيريا بالظروف المناسبة.
٣.	لاحظ ظهور لون ازرق مع خطوط النمو ليبدل على النتيجة الايجابية. واذ بقي	Bromothymol الكاشف لوني الكاشف blue بسبب انتاج acetate .
٤.	اللون الاخضر ويدل على النتيجة السلبية.	عدم الاستفادة من citrate وبالتالي عدم انتاج acetate وغيرها يبقى اللون الأخضر.

الكفاية العملية - ٣١ -

اجراء فحص Coagulase على الشريحة.

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على اجراء فحص الـ Coagulase وقراءة النتيجة.

المبدأ :

تظهر هذه التجربة قدرة البكتيريا على انتاج انزيم ESALUGAOC الذي يحول FIBRINAGON الموجود في البلازما إلى Fibrin، وقد استخدمت هذه الصفة لتحديد إمراضية المكورات العنقودية.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- النمو البكتيري للمكورات العنقودية Staphylococcus
- بلازما
- محلول ملحي طبيعي
- سلك حقن Wireloop
- قطارة
- شريحة زجاجية + عود خشبي

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	ضع على احد طرفي شريحة زجاجية نظيفة قطرة بلازما وعلى الطرف الثاني قطرة من محلول ملحي طبيعي N.S.	قطرة الفحص والضابط السلبى Negative Control
٢.	اضف قطرة من معلق بكتيريا الفحص الى كل من القطرتين.	لمزج المتفاعلين البكتيريا المتمثلة للانزيم والبلازما الممثلة (fibrinogen)
٣.	امزج جيدا بوساطة عود خشبي بحيث لا تستعمل رأس العود للقطرتين.	لكي يتمكن البكتيريا المنتجة لانزيم Coagulase من تحويل Fibrinogen الى Fibrin
٤.	حرك الشريحة وانتظر لدقيقتين الى ثلاث دقائق.	لاعطاء فرصة لحدوث التفاعل .
٥.	لاحظ حدوث التختثر مع قطرة البلازما بتكون رواسب بيضاء وعدم حدوث ذلك مع قطرة المحلول الملحي.	بسبب تكون الـ Fibrin

الكفاية العملية - ٣٢ -

اجراء فحص Urease

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على اجراء فحص urease وقراءة النتيجة.

المبدأ:

تظهر هذه التجربة قدرة البكتيريا على انتاج انزيم Urease الذي يحلل اليوريا الموجودة في الوسط وينتج الأمونيا التي ستتغير لـ لون الكاشف Phenolred الموجود في الوسط إلى اللون البنفسجي إلى الزهري .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- وسط مناسب لنمو البكتيريا ويحتوي كاشفا (PhenolRed) ويوريا مثل Christensen's Agar Media
- سلك حقن Wire-loop
- النمو البكتيري المراد فحصه
- حاضنة

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	احقن البكتيريا المراد فحصها بكتافقة على سطح الوسط الخاص بالفحص والموجود في انابيب اختبار.	لاحداث لقاء بين المتفاعلين البكتيريا ممثلة لانزيم urease والوسط ممثلة Ureau .
٢.	ضع الانبوب في الحاضنة تحت درجة ٣٧م لمدة ٢٤ ساعة.	لتزويد البكتيريا بالظرف المناسب للقيام بالنشاط الحيوي.
٣.	لاحظ ظهور لون بنفسي الى زهري ليدل على النتيجة الايجابية.	تغير لون الكاشف Phenol Red بميب تكون الامونيا.
٤.	لا تتخلص من الانابيب معطيا نتيجة سلبية قبل مضي ٤ ايام من الحضانة.	لاعطاء فرصة مناسبة للبكتيريا غير النشيطة في انتاج انزيم urease.

الكفاية العملية - ٣٣ -

اجراء فحص الذائبية في املاح الصفراء Bile Solubility Test

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على اجراء فحص الذائبية في الصفراء وقراءة النتيجة.

المبدأ:

من المعروف أن نمو البكتيريا في الوسط المسائل يظهر على شكل عكورة وفي حالة المكورات الرئوية فإنها تتحلل في وجود أملاح صفراء وتتحوّل العكورة إلى صفاء بسبب زيادة نشاط الانزيمات الحافزة لتحليل جدارها الخلوي. والأصل أن صفة التحلل موجودة في المكورات الرئوية ولكنها تزداد وتتمسّح في وجود أملاح الصفراء .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- بكتيريا الفحص
- وسط مسائل
- محلول ١٠:١ من Na-desoxycholate
- سلك حقن Wireloop
- قطارة
- حاضنة

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	احقن البكتيريا المراد فحصها في انبوب وسط مسائل واحقن لمدة ٢٤ ساعة تحت درجة ٣٧م.	تنمية بكتيريا الفحص.
٢.	اضف قطرتين الى اربع قطرات من محلول مخفف ١٠:١ Na-desoxycholate السلي ٥ ملل من النمو المسائل.	لفحص قدرة الصفراء على تحليل الخلايا البكتيرية.
٣.	ضع الانبوب لمدة ١٠-١٥ دقيقة في الحاضنة تحت درجة ٣٧م.	فترة حضانة وجو مناسب للتفاعل.
٤.	لاحظ حدوث صفاء في الانبوب ليحل على ان البكتيريا المزروعة هي المكورات الرئوية Pneumococcus	حدوث تحلل للخلايا وذهاب العكورة وظهور الصفاء.

الكفاية العملية - ٣٤ -

اجراء فحص Quellung Test لتشخيص انواع المكورات الرئوية Pneumococci

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على اجراء فحص Quellung وقراءة النتيجة.

المبدأ :

يحدث انتفاخ في المحفظة CAPSULE بشكل واضح عندما تتفاعل مع أجسام مضادة متخصصة بها ويحدث هذا في المكورات الرئوية وفي H. influenzae type .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- مصل يحوي أجسام مضادة متخصصة
- مجمد.
- بنمو المكورات الرئوية المشتبه بها .
- غطاء شريحة .
- قطارة .
- أنبوب اختبار .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	اضف اليها قطرة من معلق النمو البكتيري من Pneumococci المراد فحصه أو غيره.	لحدوث تفاعل بين الاجسام المضادة والمحفظة اذا كان هناك تخصصية.
٢.	امزج جيدا وتفحص حدوث انتفاخ في المحفظة مجهريا ليدل على النتيجة الايجابية.	نواتج التفاعل بين المحفظة والاجسام المضادة.
٣.	ان ظهور انتفاخ في المحفظة يدل على نوع البكتيريا المفحوصة من خلال معرفتنا لنوع الاجسام المضادة المضافة.	بمسبب تخصصية التفاعل بين الانتجين والجسم المضاد.

الكفاية العملية - ٣٥ -

اجراء فحص اسالة الجيلاتين Gelatin Liquefaction

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على اجراء فحص اسالة الجيلاتين وقراءة النتيجة.

المبدأ:

تظهر هذه التجربة قدرة البكتيريا على انتاج انزيمات حالة للبروتينات مثل الجيلاتين بحيث عند تنمية البكتيريا المحللة للبروتين فان الوسط يفقد صلابته ويتحول إلى سائل بفعل الانزيمات المحللة للبروتين .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- الوسط الجيلاتيني Nutrient Gelatin
- سلك الحقن Wire-loop
- حاضنة
- تلاجع

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	احقن انبوب يحوي وسط الجيلاتين بالبكتيريا المراد فحصها بوساطة سلك الحقن.	بكتيرية الفحص
٢.	ضع في الحاضنة تحت درجة ٣٧م لمدة ٢٤-٤٨ ساعة او تحت درجة ٢٤م لنفس المدة.	لاعطاء البكتيريا فرصة مناسبة لانتاج انزيمات حالة للبروتين.
٣.	انقل الأنبوب من درجة ٣٧م لدرجة ٤م لمدة ٣٠ دقيقة.	للتأكد من ان الاسالة انزيمية وليست حرارية.
٤.	خذ النتيجة بملاحظة بقاء السيلان رغم التبريد في الأنبوب الاول كاملا ليبدل على النتيجة الايجابية او ظهور سيلان على طول خط الحقن في الأنبوب المحضون بدرجة ٤م.	للتمييز بين الاسالة الحرارية والانزيمية.

الكفاية العملية - ٣٦ -

إجراء فحص إنتاج كبريتيد الهيدروجين H_2S production

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على إجراء فحص إنتاج كبريتيد الهيدروجين وقراءة النتائج.

المبدأ :

تمتلك بعض أنواع البكتيريا قدرة على تحليل الكبريت الموجود في بعض الأحماض الأمينية وتكوين كبريتيد الهيدروجين ويكشف عن ذلك بتكوين ملح كبريتي اسود اللون غير قابل للذوبان.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة:-

- وسط زراعي يحتوي على حامض أميني يحتوي على كبريت مثل
- Gelatin NaCl , peptone, Meat extract.
- حاضنة.
- سلك الحقن.
- نمو بكتيري.

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	حضر الوسط الزراعي في أنبوب اختبار.	وسط التجربة.
٢.	خذ كمية جيدة من النمو النقي بوساطة مملك الحقن واطعن الوسط الزراعي.	لتنمية البكتيريا وتزويدها بالظروف المناسبة.
٣.	ضع أنبوب الوسط في الحاضنة لليوم التالي أو الذي يليه (٢٤-٤٨ ساعة).	لتنشيط البكتيريا على النمو وممارسة النشاط الحيوي.
٤.	تفحص الأنبوب لأخذ النتيجة.	ظهور اللون الأسود مؤشر للنتيجة الإيجابية وعدم ظهوره دليل على النتيجة السلبية.

الكفائية العملية - ٣٧ -

إجراء فحص إزالة مجموعة الأمين من الحامض الأميني فينيل ألانين

Phenylalanine Deaminase Test

الهدف:

أن يكون الطالب قادراً على إجراء فحص Phenylalanine deaminase وقراءة النتائج.

المبدأ:

تستطيع بعض أنواع البكتيريا إزالة مجموعة الأمين من الحامض الأميني Phenylalanine منتجة Phenyl pyruvic acid والذي بدوره يتفاعل مع أملاح الحديد التي ستضاف للوسط الزراعي ليظهر اللون الأخضر وتتم العملية بسبب إنتاج أنزيم deaminase من قبل البكتيريا.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة:-

- الوسط المناسب المحتوي على الحامض الأميني phenylalanine
- النمو البكتيري النقي.
- حاضنة.
- محلول كلوريد الحديد تركيز ١٠%.
- سلك حقن.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	حضر الوسط فسي أنابيب اختبار وأحقنها بكمية كبيرة من النمو البكتيري النقي.	لتنمية البكتيريا على الوسط.
٢.	احضن تحت ٣٧م لمدة ٢٤ ساعة.	لتنشيط النمو بتزويدها بالظروف المناسبة.
٣.	أضف قطرات من ١٠% محلول كلوريد الحديد إلى النمو الموجود فوق الوسط.	محلول كاشف عن وجود phenyl pyruvic acid
٤.	لاحظ تكون اللون الأخضر.	دلالة على النتيجة الإيجابية.

الكفاية العملية - ٣٨ -

تجربة اختزال النترات Nitrate Reduction Test

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على إجراء فحص اختزال النترات وقراءة النتائج.

المبدأ :

يكشف هذا الفحص عن قدرة البكتيريا على إنتاج أنزيم Nitrate reductase الذي يختزل No_3 ويحوله إلى No_2 الذي يظهر في وجود المحلول الكاشف.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- النمو البكتيري النقي.
- وسط الزراعة المحتوي على نترات البوتاسيوم KNO_3
- حاضنة.
- سلك الحقن.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	حضر الوسط في أنبوب اختبار واحقنه بالنمو البكتيري النقي بوساطة سلك الحقن.	لتنمية البكتيريا على الوسط المناسب.
٢.	ضع الأنبوب في الحاضنة لمدة ٣-٤ دقائق.	لتنشيط النمو بتزويدها بالظروف المناسبة.
٣.	حضر محلول الكشف كما يلي: - أنب ٨ جرام من Sulphanilic acid في واحد ليتر من حامض الخليك N_5 - أنب ٥ جرام من Naphthy lamine في واحد لتر من حامض الخليك N_5 ج- امزج حجمين متساويين من المحلولين أ و ب.	لاستخدامه للكشف عن النتيجة.
٤.	أضف ١ ملل من محلول التجربة إلى النمو ولاحظ تكون اللون الأحمر.	لإعطاء محلول التجربة (الكاشف) مؤشر النتيجة الإيجابية لتكوين No_2

الكفاية العملية - ٣٩ -

اجراء فحص (MIO) Motility Indole Ornithine Test

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على اجراء فحص MIO وقراءة النتيجة .

المبدأ :

يكشف هذا الفحص صفة الحركة عند البكتيريا بإنتشارها في الوسط على شكل عكورة وقدرتها على استخدام الحامض الاميني Tryptophane وانتاج الأندول الذي يكشف عنه بتكون حلقة حمراء عند اضافة الديهايد مثل محلول Kovac ، وكذلك قدرتها على الاستقادة من الحامض الاميني Ornithine وانتاج مواد امينية قاعدية تحول اللون الى البنفسجي ، اما ظهور اللون الاصفر فانه دلالة على انتاج الحامض من تخمير الجلوكوز وعدم استقادة البكتيريا من Ornithine .

الاجهزة والمواد والادوات اللازمة :

- انابيب تحتوي الوسط MIO شبه الصلب.
- بكتيريا الفحص المعزولة في نمو نقي .
- سلك الحقن بدون حلقة .
- حاضنة ولهب بنسون .
- محلول Kovac

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	خذ قليلا من النمو النقي بوساطة سلك الحقن المعقم بالالهب واطعن انبوب الوسط الزراعي مدخلا السلك لي اخبر الانبوب.	حتى تستطيع البكتيريا النمو في الوسط وممارسة نشاطها الحيوي.
٢.	ضع انبوب الوسط في الحاضنة تحت درجة ٣٥-٣٧م لليوم التالي .	للتزويد بالظروف المناسبة للنمو.
٣.	خذ النتيجة بالطريقة التالية : أ- الحركة : اذا ظهرت عكورة منتشرة في الوسط دل ذلك على النتيجة الايجابية أي ان البكتيريا متحركة، واذا ظهرت عكورة على طول خط الحقن فقط دل ذلك على النتيجة السلبية أي ان البكتيريا	لأن البكتيريا المتحركة تتحرك باتجاهات مختلفة في الوسط ولذلك تظهر العكورة عامة في الوسط، اما ظهور العكورة على طول خط الحقن فقط فيدل على النمو فقط.

<p>لأن الاندول يكون اللون الاحمر في وجود الايديايد الموجود في محلول Kovac.</p> <p>لأن البكتيريا تكون قد استفادت من Ornithine وانتجت مواد امينية قاعدية فأبقت على اللون البنفسجي، اما تحول اللون الى الاصفر فيدل على تخمير الجلوكوز فقط وانتاج الحامض.</p>	<p>غير متحركة.</p> <p>ب- الاندول Indole :</p> <p>اضف عدة قطرات من محلول Kovac الى الوسط فإذا تكونت حلقة حمراء دل ذلك على النتيجة الايجابية وعدم تكون ذلك وبقلوها باللون الاصفر فإنه يدل على النتيجة السلبية.</p> <p>ج- Ornithine :</p> <p>يدل بقاء الوسط باللون البنفسجي على النتيجة الايجابية اما اذا تغير اللون البنفسجي الى الاصفر فيدل ذلك على النتيجة السلبية .</p>
---	--

الكفاية العملية - ٤٠ -

اجراء فحص (API 20) Analytical Profile Index

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على القيام بخطوات فحص API وقراءة النتائج
وتشخيص نوع البكتيريا التابعة للعائلة المعوية Enterobacteriaceae

المبدأ :

يعتمد مبدأ هذا النظام على التفاعلات الكيميائية الحيوية حيث توجد المواد الأساسية للفحوصات كمواد جافة في قمعوع وانابيب صغيرة بلاستيكية تشكل بمجموعها شريطا عريضا حيث يضاف معلق البكتيريا المراد فحصها الى هذه المواد داخل القمعوع وتحضن لمدة ٤-٦ ساعات في بعض الاحيان ولكن غالبا تحتاج ٢٤ ساعة ثم تقرأ النتائج معتمدة قراءتها على التغيرات اللونية لمحتويات القمعوع .

الاجهزة والمواد والادوات اللازمة :

- قلم وسم
- صينية وأشرطة الفحص
- ماء مقطر معقم أو محلول ملحي معقم
- محاليل الكثف المختلفة
- فهرس أسماء وأرقام البكتيريا
- ماء خفيفة
- سلك الحقن
- قطارة معقمة
- زيت معدني معقم

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	سجل اسم او رقم المريض على المكان المخصص لذلك ثم اصف ٥ ملل ماء خفيفة الى صينية الحضائنة، ثم افتح غطاء الشريط وخذ واحدا لكل صينية حضائنة.	للوسم ومنعما لحدوث لبس ، لتزويد الجو بالرطوبة، لتجهيز الشريط للعمل.
٢.	النقط مستعمرة منفردة من طبق النمو بوساطة سلك الحقن وامزجها بماء مقطر معقم او محلول ملحي معقم مزجا جيدا .	تحضير معلق بكتيري.
٣.	اضف معلق النمو الى جميع القمعوع بوساطة قطارة معقمة وأمل صينية الحضائنة واسلا مقطع الانابيب الصغيرة. يجب تعبئة	الحقن ، وازافة الزيت لمنع وصول الاكسجين.

	الانبيوب والقمع التابيعين لـ CIT و VP و GEL بالمعلق ثم املا قموع URE و ODC و LDC و ADH بزيوت معدني معقم .	
٤ .	غط الشريط بالغطاء البلاستيكي وضع في الحاضنة تحت درجة ٣٥-٣٧م لليوم التالي.	لمنع الجفاف، وللإستزويد بالظروف الفيزيائية المناسبة.
٥ .	خذ النتائج بعد ١٨-٢٤ ساعة وسجلها على النموذج الخاص، ستلاحظ نتائج التخمر من القاع الى السطح (لاهوائية) الاكسدة من السطح الى القاع (هوائية).	تمهيدا لاستخدام الفهرس الذي سيعطي اسم نوع البكتيريا موضوع الفحص.
٦ .	لا تضيف محاليل الكشف الا بعد تفحص الجلوكون لوجود غاز ام لا .	لمنع اخفاء وجود الغاز بالمحاليل الكاشفة .
٧ .	اضف محاليل الكشف الـ VP و TDA اذا كانت نتيجة فحص الجلوكون ايجابية حيث ستظهر نتيجة TDA فورا بينما نتيجة VP بعد ١٠ دقائق.	لأن فحص VP يعتمد على تخمير الجلوكون ويستخدم تخمير الجلوكون كعيار ايجابي لتغير لون الكشف لفحص TDA.
٨ .	اضف محلول Kovac لانبيوب الاتودول ومطول كشف النيترات No3 في نهاية الامر.	لأن الاتودول و No3 ينتجان غازا يتداخل مع فحوصات اخرى في الشريط.
٩ .	اجر فحص الحركة باستخدام تقنية القطرة المعلقة.	لمعرفة ان كانت البكتيريا متحركة ام لا .
١٠ .	سجل نتائج الواحد والعشرين فصفا على النموذج لتتحول الى ٧ ارقام بوضعها في مجموعات ثلاثية كل ٣ فحوصات في مجموعة بحيث يأخذ كل فحص ايجابي النتيجة قيمة رقمية هي نفس الرقم الموجود اعلى رمز الفحص.	تحويل النتيجة الى رقم مكون من ٧ خانات .
١١ .	ابحث عن الرقم الناتج عندك والمكون من ٧ خانات في الفهرس.	للحصول على اسم البكتيريا موضوع الدراسة.

إجراء تجربة إليك Elek plate Test

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على إجراء تجربة إليك لتشخيص عصيات الدفتيريا (الخناق).

المبدأ:

ان يكون الطالب قادرا على القيام بخطوات فحص API وقراءة النتائج وتشخيص نوع البكتيريا التابعة للعائلة المعوية Enterobacteriaceae عند تفاعل سموم الدفتيريا Diphtheria toxin مع أجسامها المضادة فإن التفاعل يظهر على شكل خط ترسيب. حيث ينتشر السم من البكتيريا باتجاه الأعلى والأسفل وفي نفس الوقت تنتشر الأجسام المضادة يمينا وشمالا ويحدث اللقاء بزاوية ٤٥ مع الخط العرضي.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- شريط ورق ترشيح مشبع بأجسام مضادة لمسموم • سلك الحقن الدفتيريا.
- وسط زراعي في طبق بتري يحوي النمو المشتبه بأنه عصيات الدفتيريا.
- نمو ضابط ايجابي وسلبى Control • حاضنة.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	حضر الوسط الزراعي الخاص بالفحص في طبق بتري.	الوسط المناسب لأحداث التفاعل.
٢.	أغمر شريط ورق الترشيح بالمصل المحتوي على أجسام مضادة لمسموم الدفتيريا وضعه على سطح الوسط ليكون موازي لنظرك (طوليا).	لتحضير شريط الفحص كأحد المتفاعلين.
٣.	انشر للنمو البكتيري بوساطة سلك الحقن على سطح الوسط الزراعي بطريقة التخطيطي تؤدي إلى تقاطع خطوط الحقن مع شريط ورقة الترشيح (عرضيا).	ليمثل الأنتجين المتفاعل الآخر ولكي يحدث لقاء بين المتفاعلين.
٤.	كرر الخطوة الأخيرة مستخدما نموا ضابطا ايجابيا وآخر سلبيا.	لمقارنة نتيجة الفحص والتحقق من صلاحية المواد المستخدمة.
٥.	أحضر الأطباق تحت ٣٧ لمدة ٢٤ ساعة وقد تحتاج إلى ٧٢ ساعة حضنة.	الوقت ودرجة الحرارة اللازمين لإتمام التفاعل.
٦.	أخرج الأطباق من الحاضنة ولاحظ تحت الضوء وجود خط ترسيب بزاوية ٤٥ درجة مع خط التخطيط	ليدل على النتيجة الإيجابية.

الكفاية العملية - ٤٢ -

عزل عصيات Clostridium من التربة

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على القيام بعزل عصيات Clostridium من التربة.

الاجهزة والمواد والادوات اللازمة :

- حبة بطاطا
- كأس زجاجي
- ماء
- حاضنة
- شرائح زجاجية ومحلول ملحي طبيعي
- ملك حقن Wire Loop
- محاليل واصباغ طريقة جرام

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	اقسم حبة البطاطا عرضيا من الوسط الى قسمين ثم اعمل حفرة في السطح المقسوم.	لعمل مكان مناسب لاحتواء التربة.
٢.	املأ الحفرة بالتراب	مصدر العينة.
٣.	اقلب نصف حبة البطاطا في كأس زجاجي بحيث يلامس سطح حبة البطاطا المكونة فيها الحفرة سطح قاع الكأس.	لمنع وصول الهواء اليها.
٤.	اغمر نصف حبة البطاطا بالماء.	للتزويد بالظروف اللاهوائية
٥.	ضع الكأس في الحاضنة لليوم التالي تحت درجة ٣٧م.	لتنمية البكتيريا الموجودة في عينة التربة
٦.	خذ من الماء الموجود في الكأس وحضر لطفة على شريحة زجاجية واصبغها بطريقة جرام.	تحضير لطفة وصبغها.
٧.	ابحث عن عصيات موجبة لصبغة جرام تشبه في شكلها مضرب التنس.	وجود عصيات على شكل مضرب التنس يدل على وجود عصيات Clostridium.

الكفاية العملية - ٤٣ -

تعداد البكتيريا في المنابت السائلة باستعمال الطيف الضوئي

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على تعداد الخلايا البكتيرية في المنابت السائلة باستعمال الطيف الضوئي.

المبدأ:

يعتمد على قياس امتصاصية الضوء من قبل سيتوبلازم الخلية فكلما كان عدد الخلايا البكتيرية أكثر زادت الامتصاصية والعكس صحيح . ولذلك فإن الخلية الأكبر تمتص الضوء أكثر من الخلية الأصغر وهذه من سلبيات هذه الطريقة .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- العينة
- وسط سائل
- ماصة معقمة
- سلك حلق Wire-loop
- جهاز تحليل الطيف الضوئي.
- حاضنة.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	خذ ٠.١ ملل من نمو بكتيري في وسط سائل وانتشره على سطح وسط صلب واحتضن تحت درجة ٣٧°م لمدة ٢٤ ساعة وعد المستعمرات النامية .	للحصول على عدد الخلايا في المعلق المعياري.
٢.	اضبط جهاز تحليل الطيف الضوئي على الوسط السائل الخالي من النمو بعد تحديد طول الموجة المناسب.	لتفسير الجهاز أي معيار للعدد صفر (Blank) .
٣.	خذ مقدار الامتصاص Absorption لهذا النمو في الوسط السائل الوارد في الخطوة (١) كمعلق معياري.	لأن الامتصاص يمثل عدد الخلايا البكتيرية في العينة (كتلة السيتوبلازم).
٤.	خذ مقدار الامتصاص للعينة موضوع الدراسة.	لأن الامتصاص يمثل عدد الخلايا البكتيرية في العينة (كتلة السيتوبلازم).

<p>يمثل عدد الخلايا في المعلق المعياري.</p>	<p>٥. عد المستعمرات النامية على الطبق بعد اتمام فترة الحضانة واضرب في ١٠ ليمثل عدد البكتيريا / ١ ملل من الوسط المعائل.</p>	<p>٥.</p>
<p>للحصول على تعداد البكتيريا في العينة.</p>	<p>٦. طبق المعادلة: عدد الخلايا في العينة = الكثافة الضوئية للعينة × عدد الخلايا في المعلق المعياري الكثافة الضوئية للمعلق المعياري</p>	<p>٦.</p>

الفصل الأول

أساسيات علم الأحياء الدقيقة

الوحدة الثالثة : أساسيات علم الأحياء الدقيقة التشخيصي

Diagnostic Microbiology

الكفاية العملية - ٤٤ -

جمع العينات المرضية للزراعة

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على جمع العينات المرضية المختلفة والمطلوبة منه لغايات الزراعة بشكل صحيح لاعطاء نتائج صادقة.

المبدأ :

يعتمد على القواعد العامة لجمع العينات لغايات الزراعة والواردة في الخطوات المذكورة ادناه .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- اوعية معقمة لجمع عينات البول
- خلعضات لسان.
- اطباق بتري معقمة فارغة .
- قطن وكحول للتطهير.
- حقن بلاستيكية معقمة Syringes
- رابطة مطاطية Tourniquet
- ماسحات قطنية معقمة .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	لا تجمع العينة من المريض المتعاطي للمضادات الحيوية الا بعد مضي ٣ ايام من اخر جرعة تناولها او اضف مادة مثبتة للمضاد الحيوي المتعاطي الى الوسط الزراعي المستخدم.	لتجنب ظهور نتائج سلبية خاطئة.
٢.	اجمع العينة وبكمية كافية من المكان المتوقع وجود المسبب فيه وبأسلوب يمنع التلوث ما امكن .	لاجراء جميع الفحوصات المطلوبة ولاظهار نتائج صادقة.
٣.	استعمل ادوات معقمة وفي اجواء معقمة اثناء جمعك للعينة ما امكن .	لمنع تلوث العينة وظهور نتائج ايجابية خاطئة.
٤.	استعمل وسط نقل خاص للعينات او صندوق ثلج اذا كان هناك وقت او مضافة بين جمع العينة والشروع في زراعتها.	للمحافظة على الجراثيم الموجودة في العينة دون نقص او زيادة.
٥.	خذ الحيطنة والحذر لمنع تلوث العينة او اصابتك بأي تلوث.	لتجنب ظهور نتائج ايجابية خاطئة وحمايتك من الإصابة بالمرض .
٦.	احفظ العينة في الثلاجة لحين البدء في خطوات الزراعة اذا لم تباشر بالزراعة مباشرة.	لمنع تكاثر الجراثيم الموجودة في العينة وزيادة عددها عن العدد الموجود.

الكفاية العملية - ٤٥ -

جمع مسحات من الحلق والعين والانز والجرح والحرق

والجهاز التناسلي الذكري والانثوي والبلغم والبول

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على جمع مسحات من المواقع المذكورة اعلاه صالحة لغايات الزراعة وعزل مسببات الالتهاب .

المبدأ :

جمع العينة التي تمثل الاصابة ضمن الشروط الواجب اتباعها في جمع العينات المرضية وتجنب ظهور أي نتائج ايجابية او سلبية خاطئة .

* مسحات الحلق SWAB THROAT :

الاجهزة والمواد والاموات اللازمة :

- ماسحة قطنية معقمة Sterile Cotton Swab
- خافض لسان .

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	اطلب من المريض فتح فمه بشكل كامل وقول أه.	لتسهيل مهمة مشاهدة والوصول الى الموقع المطلوب .
٢.	اضغط على اللسان الى اسفل بوساطة خافض اللسان .	لتسهيل مشاهدة والوصول الى موقع الاصابة.
٣.	اخرج الماسحة القطنية من غلافها وادخلها عبر الفم حتى تصل الى موقع الالتهاب دون ملاصقتها لأي جزء داخل تجويف الفم سواء أثناء الدخول او الخروج.	لمنع التلوث .
٤.	امسح موقع الاصابة عدة مرات واخرجها وادخلها الى داخل غلافها.	لجمع العينة من الموقع المصاب.
٥.	احفظها في الثلجة لحين الزراعة.	لمنع حدوث أي تغير على العينة.

* -٤٦- مسحات العين SWAB EYE

الاجهزة والمواد والادوات اللازمة :

• عود خشبي

• ماسحة قطنية معقمة Sterile Cotton Swab

الرقم	الخطوات	الغرض
١.	اقلب جفن العين بوساطة العود الخشبي .	لتسهيل الوصول الى موقع الالتصاق.
٢.	امسح بوساطة الماسحة القطنية ملتصقة العين المصابة.	لجمع العينة.
٣.	ضع الماسحة القطنية الى داخل غلافها واحفظها في الثلاجة اذا لم تزرع مباشرة.	لمنع التلوث او التغيير.

* -٤٧- مسحات الأذن SWAB EAR

الأجهزة والمواد والأدوات اللازمة :

- محلول مطهر مثل الكحول .
- قطن .
- ماسحة قطنية معقمة .

المرحلة	الخطوات	الوقت
١.	امسح الأذن الخارجية بوساطة مطهر مناسب مثل الكحول.	للتخلص من الميكروبات الطبيعية.
٢.	ادخل الماسحة القطنية في القناة السمعية الخارجية ولفها عدة مرات .	لجمع أكبر كمية ممكنة من العينة .
٣.	اخرجها واحفظها في غلافها واحفظها في الثلجة إذا لم تزرع مباشرة.	لمنع التلوث والتغير .

• ٤٨- مسحات الجروح والحروق SWAB AND BURN WOUND :

الاجهزة والمواد والادوات اللازمة :

• ابرة او واخزة (Lancet) معقمة.

• محلول مطهر مثل اليود.

• ماسحة قطنية معقمة .

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	امسح موقع الإصابة الخارجي بالمطهر.	لازالة الساكن الطبيعي على الجلد.
٢.	بوساطة الواخزة او الابرة اتقب الجرح او الحرق الملتهب.	لمسهولة الحصول على العينة المصابة.
٣.	بوساطة الماسحة القطنية خذ الاقراعات او الصديد الخارج من الموقع.	لجمع العينة.
٤.	احفظ الماسحة في داخل غلافها واحفظها في الثلجة اذا لم تزرع مباشرة.	لمنع التلوث والتغير .

* ٤٩- مسحات الجهاز التناسلي الذكري (الاحليل) SWAB URETHRAL

• الاجهزة والمواد والابوات اللازمة :

• محلول مطهر مثل الكحول.

• ماسحة قطنية معقمة

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	امسح الفتحة البولية التناسلية بوساطة المطهر.	للتخلص من الماكن الطبيعي.
٢.	ادخل الماسحة القطنية عبر الفتحة البولية التناسلية الى داخل الاحليل لمسافة ١-٢سم.	للوصول الى موقع الاصابة.
٣.	لف الماسحة بلطف بشكل دائري.	للحصول على العينة بشكل مناسب.
٤.	اخرج الماسحة وضعها داخل غلافها واحفظها في الثلجة اذا لم تزرع مباشرة.	لمنع التلوث او التغيير.

• - ٥ - • مسحات من الجهاز التناسلي الانثوي (عق الرحم) BAWS CERVICAL
الاجهزة والمواد والادوات اللازمة :

• ماسحة قطنية معقمة • منظار مهبل ثنائي الفتحات Bivalve Speculum

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	ضع المنظار المهبلي المعقم داخل المهبل.	لتجنب لمس الماسحة لجدران المهبل.
٢.	نظف المهبل من الافرازات المهبليّة بوساطة ماسحات قطنية.	للتخلص من الافرازات المهبليّة.
٣.	ادخل ماسحة قطنية عبر المنظار المهبل حتى تصل الى عنق الرحم.	لمنع التلوث .
٤.	مرر الماسحة على جدار عنق الرحم واجعله يمكث ٢-٣ دقائق .	لجمع العينة من موقع الإصابة.
٥.	اخرج الماسحة وضعها في غلافها واحفظها في الثلاجة اذا لم تزرع مباشرة.	لتجنب التلوث او التغيير .

*** - ٥١ - البلغم : SPUTUM**
الاجهزة والمواد والاموات اللازمة :
 • عبة بلاستيكية معقمة .

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	اطلب من المريض ان يسعل سعدة عميقة من اعماق الرئة.	اتمثل عينة من موقع التهاب الرئة .
٢.	اطلب من المريض ان يفرغها داخل العبة المعقمة التي لا تفتح الا حين تفريغ عينة البلغم فيها.	للحفظ من التلوث .
٣.	اطلب من المريض / او اغلق عبة العينة واحفظها في الثلاجة لحين الزراعة.	للحفظ من التلوث او التغيير .
٤.	يجب تجنب جمع اللعاب.	لانه لا يمثل عينة التهاب الرئة.

* -٥٢- البول URINE :
الاجهزة والمواد والادوات اللازمة :

• حاوية مغلقة معقمة .
• ماء

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	اطلب من المريض تنظيف منطقة خروج البول من الخارج بالماء .	للتخلص من المساكن الطبيعي للجلد
٢.	اطلب من المريض التخلص من اول كمية بول تخرج من الاحليل .	لأنها تنظف الاحليل من البكتيريا الداخلة من الخارج.
٣.	اطلب من المريض فتح حاوية العينة ووضع البول المتدفق فيها واغلاقها بعد الانتهاء مباشرة.	جمع العينة ومنعها من التلوث .
٤.	تحفظ العينة في الثلجة لحين الزراعة .	لمنع نمو وتكاثر البكتيريا ولتجنب ظهور نتائج ايجابية خاطئة.

الكفاية العملية - ٥٣ -

جمع عينة دم لغايات الزراعة

الهدف:

أن يكون الطالب قادراً على جمع عينة دم من المريض تصلح لغايات الزراعة.

المبدأ:

يعتمد على جمع كمية مناسبة من العينة تحت ظروف وبأدوات معقمة.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- رابطة مطاطية Tourniquet • قنينة وسط زراعة الدم.
- حقنة مع إيبرة معقمة.
- مواد مطهرة (محلول يود وكحول) وقطن وأشرطة طبية لاصقة.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	اربط الرابطة المطاطية حول الذراع فوق المرفق.	حتى يبرز الوريد.
٢.	تفحص طبخية الأوردة المرفقية واطلب من المريض اغلاق وفتح كفة اليد.	للتأكد من إدراك الوريد وتنشيط الدورة الدموية.
٣.	طهر منطقة الوريد الذي ستسحب منه الدم بمحلول اليود والكحول عدة مرات مغيرا القطن في كل مرة.	لمنع تلوث الإبرة أثناء دخولها إلى الوريد وحصول مضاعفات للمريض.
٤.	تأكد من خلو الحقنة من الهواء بضغط المكبس إلى آخر مداه وتأكد من ثبات الإبرة في رأس الحقنة بشكل جيد.	لتجنب دخول الهواء إلى الدورة الدموية وتجنب انفصال الإبرة عن الحقنة عند سحبها من الوريد بعد الإنتهاء من جمع العينة.
٥.	انزع غطاء الإبرة وادخلها في الوريد بشكل مواز لإتجاه الوريد وبزاوية ٣٠-٤٥ درجة مع سطح الجلد.	لإدخال الإبرة بشكل مواز لجريان الدم وعدم ادخالها عموديا خوفا من ثقب الوريد من الجهة المقابلة ثقبها أخرا.
٦.	امسح مكبس الحقنة لكي يبدأ الدم بالتدفق في داخل الحقنة.	لجمع العينة في الحقنة لكي تكون الكمية كافية لعزل المسبب إن وجد في العينة ومنع خروج الدم خارج الوريد ومنع التلوث.

٧.	اجمع ١٠-١٥ ملل من الدم ثم فك الرباط وغط مكان دخول الإبرة بقطننة مبللة بالمطهر واخرج الإبرة من داخل الوريد واطلب من الممرض ثني ذراعه للأعلى.	كمية كافية لغايات الزراعة ولمسح تمريض الثقب للجو الخارجي وحتى يتوقف الدم عن الخروج من الوريد.
٨.	فرغ محتوى الحقنة في داخل قنينة وسط زراعة الدم ثم اقلبها مرتين بلطف.	لمزج الوسط الزراعي مع الدم (البكتيريا) إن وجدت.
٩.	غط منطقة الثقب بوساطة شريط طبي لاصق وتخلص من بقايا الحقنة والإبرة والقطن.	لمنع أي احتمال لتلوث الثقب.

الكفالية العملية - ٥٤ -

تشخيص مسببات الاصابة في الجهاز البولي

الهدف :

١. أن يكون الطالب قادرا على زراعة عينات البول .
٢. أن يكون الطالب قادرا على عزل وتشخيص مسببات الالتهاب .
٣. أن يكون الطالب قادرا على كتابة التقرير للطبيب .
٤. أن يكون الطالب قادرا على اتخاذ قرار بمرضية الحالة .

المبدأ :

يعتمد مبدأ تشخيص مسببات الاصابة في أي جهاز في جسم الانسان على المعرفة المسبقة بصفات البكتيريا المتوقع تسببها في الالتهاب سواء من الناحية الشكلية أو الزراعية أو الكيميائية الحيوية أو المصلية .

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- عينة بول
- سلك الحقن loop- Wire
- حاضنة .
- أوساط زراعية Sens. Agar, B, A, Mac C, EMB
- المواد اللازمة لاجراء الفحوصات الكيميائية الحيوية والشكلية والمصلية .
- لهب بنسون
- ملقط .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	امزج عينة البول ثم ادخل سلك الحقن المعقم المعايير (بقطر ٤ ملم) داخل العينة ليحمل ١,٠٠ ملل من العينة .	لتحقيق التجانس ثم لتثبيت حجم العينة المزروع.
٢.	انشر العينة المحمولة على سطح كل وسط من الأوساط الزراعية المستخدمة وبطريقة التخطيط Streaking method دون حرق السلك بين مناطق التخطيط المختلفة أو بآلية طريقة تخطيط أخرى .	للزراعة والتخفيف ولمحاولاة تنمية جميع الخلايا العالقة على سلك الحقن.
٣.	ضع الأطباق في الحاضنة تحت درجة ٣٧ م لمدة ٢٤-٤٨ ساعة .	للتزويد بالظروف والزمن اللازم للنمو.
٤.	عد المستعمرات النامية	لأنك اخذت ١٠٠/١ ملل ،

واضرب العدد $100 \times$ لتحصل على عدد الخلايا في كل 1 ملل من العينة، إذا كان العدد دون الحد الأدنى للحالة المرضية تخلص من الأطباق معطوياً نتيجة سلبية. أما إذا كان العدد في دائرة الحالة المرضية فتابع الخطوات التالية:	ولتقييم الحالة.
٥. أرصد الصفات الزراعية وقم بإجراء ما يلزم من تجارب الصفات الشكلية إذا لزم الأمر.	للتعرف على الصفات الزراعية والشكلية .
٦. قم بإجراء ما يلزم من تجارب الصفات الكيميائية الحيوية إذا لم تتمكن من تشخيص الجراثيم النامية الشكلية والزاعية.	للتعرف على الصفات الكيميائية الحيوية .
٧. قم بإجراء ما يلزم من تجارب الصفات المصلية إذا لم تتمكن من تشخيص الجراثيم النامية أو إذا كان المطلوب التشخيص على مستوى النوع Type .	للمساعدة في التشخيص والتأكيد على نوع البكتيريا .
٨. قم بإجراء تجربة حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية.	لمعرفة نوع المضاد الحيوي القاتل للبكتيريا المسببة.
٩. حضر لطخة من راسب عينة البول واصبغها بطريقة Z.N إذا أثبتته بالاصابة بـ T.B.	للتأكد من وجود عصيات المل.
١٠. اكتب التقرير موضحاً فيه نوع الجراثيم المسببة للاصابة ونتيجة تجربة حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية أو سلبية النتيجة.	لارشاد الطبيب في وصف العلاج.

الكفاية العملية - ٥٥ -

تشخيص مسببات المرضية في العينات التالية:

١. مسحات الجهاز التناسلي (المهبل والاحليل).
٢. افرازات البروستات
٣. مسحات الحلق والفم
٤. مسحات الاذن
٥. مسحات العين
٦. مسحات الحروق والجروح

الهدف :

١. ان يكون الطالب قادرا على القيام بزراعة العينات الواردة اليه بشكل صحيح.
٢. ان يكون الطالب قادرا على القيام بتشخيص مسببات الالتهاب.
- ان يكون الطالب قادرا على القيام بكتابة التقرير للطبيب.

الأجهزة والاموات والمواد اللازمة :

- اوساط زراعية وتشمل : CHOCOLATE AGAR, BLOOD AGAR, M.S.A, MACC., EMB, SENSITIVITY AGAR, THIOGLYCHOLATE BROTH, SDA.
- KOH %٥٠
- اقراص لمضادات حيوية.
- ملقط
- لهب بنسون
- سلك الحقن WIRE-LOOP
- المواد اللازمة لاجراء الفحوصات الشكلية والكيميائية الحيوية والمصلية.
- ماسحات قطنية معقمة .
- حاضنة .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	انشر العينة على سطح الاوساط الزراعية المعنية المستخدمة لعمل خطوط بوساطة الماسحة القطنية أو المس الماسحة بسطح الوسط وأكمل التخطيط بوساطة سلك الحقن .	إذا كانت الماسحة القطنية تحمل جزءا قليلا جدا من العينة. إذا كانت تحمل كمية كبيرة من العينة .
٢.	حضر لطخة مباشرة Direct Smear بدرجة Rolling الماسحة	لتشخيص Neisseria وبعض الانواع الاخرى

	على الشريحة واصبغها بصبغة جرام إذا كانت العينة من الجهاز التناسلي الذكوري أو الأنثوي.	وبسرعة.
٣.	حضر معلق العينة باستخدام ٥% KOH إذا اشتهب بوجود فطريات.	لمشاهدة الفصينات الفطرية .
٤.	ضع الاطباق المحضونة بالعينات في الحاضنة تحت درجة ٣٧م لمدة ٢٤-٨ ساعة واطبق احدى الجرة اللاهوائية Anaerobic Jar .	لتنمية البكتيريا الهوائية واللاهوائية.
٥.	تخلص من الاطباق معطيا نتيجة سلبية إذا لم يظهر نمو بعد ٤٨ ساعة من الحضانة .	لعدم ظهور نتيجة تحتاج للمتابعة .
٦.	ارصد الصفات الزراعية للجراثيم النامية على كل وسط وقم بإجراء ما يلزم من تجارب الصفات الشكلية إذا لزم الأمر .	للتعرف على الصفات الزراعية والشكلية .
٧.	قم بإجراء ما يلزم من تجارب الصفات الكيميائية الحيوية إذا لم تتمكن من تشخيص الجراثيم النامية من خلال الصفات الشكلية والزراعية.	للتعرف على الصفات الكيميائية والحيوية .
٨.	قم بإجراء ما يلزم من تجارب الصفات المصلية إذا لم تتمكن من تشخيص الجراثيم النامية، أو إذا كان المطلوب التشخيص على مستوى النوع Type.	للتعرف على الصفات المصلية والتأكد على نوع البكتيريا .
٩.	قم بإجراء تجربة حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية.	لمعرفة نوع المضاد الحيوي القاتل للبكتيريا المسببة.
١٠.	اكتب التقرير موضحا فيه نوع الجرثومة المسببة للالتهاب، ونتيجة تجربة حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية، أو سلبية النتيجة.	لارشاد الطبيب في وصف العلاج.

الكفاية العملية - ٥٦ -

تشخيص مسببات الاصابة للقناة الهضمية (المعدة والامعاء)

الهدف :

١. ان يكون الطالب قادرا على زراعة عينات البراز.
٢. ان يكون الطالب قادرا على تشخيص مسببات التهاب الامعاء.
٣. ان يكون الطالب قادرا على كتابة التقرير للطبيب.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- عينة براز او مسحات شرجية او عينة نسجية معدية.
- اوساط زراعية X.L.D. , D.C.A. , S.S.A. , Selenite broth, T.C.B.S., M.S.A., EMB., MacC., B.S.A. , Campy-Blood Agar, Skirrows Agar, S.D.A
- اقراص مضادات حيوية وملقط.
- سلك الحقن Wire-loop
- لهب بنسون
- المواد اللازمة لاجراء الفحوصات الكيميائية الحيوية والفحوصات المصلية والشكلية .
- مسحات قطنية Cotton Swab معقمة .
- حاضنة .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	خذ كمية من عينة البراز بوساطة ماسحة قطنية معقمة او المسحة الشرجية واحقنها في الاوساط السائلة Selenite broth.	عزل الهالمونيلا والشيغيلا .
٢.	خذ كمية من عينة البراز السائلة بوساطة ماسحة قطنية معقمة او المسحة الشرجية واحقنها في الاوساط الصلبة المعنية بطريقة التخطيط .	لتنمية المميب حسب الوسط المستخدم.
٣.	خذ كمية من عينة البراز غير السائلة بوساطة ماسحة قطنية معقمة وضعها في انبوب اختيار يحوي محلول ملحي طبيعي N.S معقم لعمل معلق للعينة ثم امزج جيدا وانقل من المعلق الى سطح الاوساط الصلبة المعنية وبطريقة التخطيط.	لتجنب وجود جزيئات براز على سطح الوسط الصلب الذي يؤدي الى ظهور المستعمرات بشكل واضح.
٤.	خذ العينة النسيجية المعدية واحقنها على Skirrows Agar	لعزل H. pylori

٥.	ضع الاوساط المحقونة المختلفة والمعنية بالفحص في الحاضنة تحت درجة ٣٧م لليوم التالي او الذي يليه. وتحت ظروف تحوي قليلا من الاكسجين ونسبة عالية من الرطوبة للوسط Skirrows Agar ولمدة ٧ ايام.	لتزويد البكتيريا بالاجواء المناسبة للنمو.
٦.	انقل من الاوساط السائلة في الخطوة الاولى الى S.S. Agar او D.C.A واحقن لليوم التالي.	لعزل الـ Salmonella و الـ Shigella.
٧.	تخلص من الاطباق التي لم تظهر نموا بعد ٤٨ ساعة من الحضانة.	لاعتبار النتيجة سلبية.
٨.	ارصد الصفات الزراعية للبكتيريا النامية على كل نوع من الاوساط المحقونة وقم بإجراء ما يلزم من تجارب الصفات الشكلية اذا لزم الامر.	للتعرف على الصفات الزراعية والشكلية .
٩.	قم بإجراء ما يلزم من تجارب الصفات الكيميائية الحيوية اذا لم تتمكن من تشخيص الجراثيم النامية من خلال الصفات الشكلية والزراعية.	للتعرف على الصفات الكيميائية الحيوية .
١٠.	قم بإجراء ما يلزم من تجارب الصفات المصلية اذا لم تتمكن من تشخيص الجراثيم النامية او اذا كان المطلوب التشخيص على مستوى النوع Type.	للتعرف على الصفات المصلية والتأكيد على نوع البكتيريا .
١١.	قم بإجراء تجربة حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية تبعا لنوع الجرثومة المعزولة.	لمعرفة نوع المضاد الحيوي القاتل للبكتيريا المسببة.
١٢.	حضر لطفة من البراز واصبغها بطريقة Z.N اذا اشتبه بالاصابة بـ T.B .	للتأكد من وجود عصيات المل .
١٣.	اكتب التقرير موضحا فيه نوع الجرثومة المسببة للاصابة، ونتيجة تجربة حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية او سلبية النتيجة.	لارشاد الطبيب في وصف العلاج.

الكفاية العملية - ٥٧ -

تشخيص المسببات المرضية لالتهاب السحايا والدماغ في عينة سائل النخاع

الشوكي CSF

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على القيام باجراءات تشخيص المسبب المرضي لالتهاب السحايا والدماغ . أ- الفحص المباشر ب- الزراعة .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- قطرات
- شرائح زجاجية واغطيتها .
- امصال خاصة للمكورات الرئوية
- مواد فحص حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية .
- انابيب اختبار
- جهاز طرد مركزي
- محلول ملحي طبيعي N.S. والحبر الصيني
- حاضنة .
- اوساط زراعية Thioglycolate broth و L.j.m و B.a و Ch.a و Sda و Brain heart
- Macc. و infusion

المبررات	الخطوات	الرقم
لفصل الجراثيم في الرايب عن باقي اجزاء العينة .	أ- الفحص المباشر : ركز العينة مستخدما جهاز الطرد المركزي وافصل الطافي في انبوب معقم لاجراء الفحوصات الكيميائية الحيوية والمصلية وابق الرايب للفحوصات الجرثومية .	١ .
لمشاهدة E. histolytica	جهاز تحضير رطب باستخدام المحلول الملحي الطبيعي N.S	٢ .
لمشاهدة C. neoformans	جهاز تحضير رطب باستخدام الحبر الهندي India Ink .	٣ .
للتحقق من وجود Strep. Pncumonia و H. influenza	اجراء فحص Quallung .	٤ .
لتنمية المسبب الموجود .	ب- الزراعة : احقن الرايب في انبوب يحوي Thioglycolate broth واخر يحوي	١ .

	L.J.M واطباق تحوي B.A و Ch.A و SDA او BHI Agar و MacC .	
٢.	ضع الاطباق في الحاضنة تحت درجة ٣٧ لمدة ٢٤-٨ ساعة -٧٢ ساعة تحت الظروف الهوائية وبوجود ٥-١٠% Co2 بينما ابق اطباق SDA وانايب L.J.M في درجة حرارة الغرفة.	لتنمية البكتيريا الهوائية واللاهوائية
٣.	تفحص الاطباق بعد كل ٢٤ ساعة واعط نتيجة سلبية بعد ٧٢ ساعة اذا لم يظهر نمو باستثناء طبق SDA بعد اسبوع وانايب L.J.M بعد ٤ اسابيع.	عدم وجود جراثيم في العينة.
٤.	ارصد الصفات الزراعية عند ظهور نمو ثم قم باجراء تجارب فحوصات الصفات الشكلية ثم الكيمائية الحيوية ثم المصانية كلما لزم الامر.	لاتمام التشخيص
٥.	اجر تجربة حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية.	لمعرفة نوع المضاد الحيوي القاتل للبكتيريا المسببة للاصابة .
٦.	اكتب التقرير للطبيب مبينا نوع المسبب وحساسيته ومقاومته للمضادات الحيوية المستخدمة.	لارشاد الطبيب في العلاج.

الكفاية العملية - ٥٨ -

تشخيص المسببات المرضية في عينة الدم.

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على القيام باجراءات تشخيص المسبب المرضي
لتعفن (تجرثم) الدم Septicemia.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- حقن بلاستيكية معقمة • قنينة زراعة الدم Blood Culture Bottle
- أنابيب اختبار • موانع تجلط .
- أوساط زراعية مختلفة • حاضنة
- سلك الحقن . • رابطة مطاطية Tourniquet
- مواد فحص حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	اجمع ١-٥ ملل دم من الاطفال و ١٠-١٢ ملل او ٣٠ ملل من البالغين تحت ظروف معقمة تماما وفرغ في انبوب يحوي ٣,٤ ملل من ٠,٣٥% مانع للتجلط من نوع liquid في N.S امزج جيدا. او فرغ الدم مباشرة في قنينة تحوي وسطا مثلثا او Trypticase broth Trypticaseل مع Soy broth مع مانع للتجلط مناسب Blood Culture Bottle ثم امزج جيدا.	لجمع العينة بالشكل والكمية المناسبين وحقنها في الوسط الزراعي الخاص .
٢.	احضن قنيتي زراعة الدم هوائيا ولاهوائيا تحت درجة ٣٧م.	لتوفير الظروف المناسبة للنمو .
٣.	خذ من قناتي زراعة الدم (واحدة او اكثر) بعد المزج عوة حلقة سلك loopful الحقن واشر على سطح الاطباق B.A و Ch.A واحضن هوائيا	للتحقق من وجود أي جراثيم نامية.

	ولاهوائيا، ثم حضر في نفس الوقت لطفة واصبغها بطريقة جرام وافحصها مجهريا.	
٤.	كرّر العملية كل يوم خلال الاسبوع الاول وكل يومين مرة خلال الاسبوع الثاني حتى يظهر النمو ويشخص او تبقى النتيجة سلبية بعدم ظهور نمو بعد مضي اسبوعين من الحضانة المستمرة.	لمتابعة التحقق من وجود أي جراثيم نامية .
٥.	ارصد الصفات الزراعية واجر تجارب الصفات الشكالية والكيميائية الحيوية والمصلية كلما لزم الامر .	لاتمام التشخيص.
٦.	اجر تجربة فحص حساسية البكتيرية للمضادات الحيوية للبكتيريا المعزولة.	لمعرفة انواع المضادات الحيوية القاتلة للبكتيريا .
٧.	اكتب النتيجة التي حصلت عليها سواء الايجابية ذكرا فيها اسم نوع الجرثومة المعزولة ونتيجة تجربة حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية ام السلبية بعد انتهاء فترة الحضانة.	لارشاد الطبيب للعلاج.
٨.	في حالة توفر نظام الحضانة والكشف الذاتي Bactec System فسي المختبر فلن تحتاج للزراعة الثانوية على الأوساط الصلبة إلا بعد إعطاء إشارة من الجهاز يدل على حدوث نمو في قينة زراعة الدّم .	يزود النظام كاشف خارجي (صوت إنذار أو/ و إضاءة) يعتمد على انتاج الغاز كأحد مخلفات النمو .

الكفاية العملية - ٥٩ -

تشخيص مسبب التهاب الجهاز التنفسي السفلي

الهدف :

١. ان يكون الطالب قادرا على تجهيز عينة البلغم للفحص.
٢. ان يكون الطالب قادرا على تشخيص المسبب المرضي لالتهاب الجهاز التنفسي السفلي من خلال زراعة عينة البلغم او الشفط المعدي او الشفط القصبي او غسيل الحويصلات الشعبية.
٣. ان يكون الطالب قادرا على تشخيص المسبب المرضي لالتهاب الجهاز التنفسي السفلي من خلال الفحص المجهرى للبلغم.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- محلول KOH تركيز ٥% و ١٠%
- جهاز الطرد المركزي
- أنابيب الوسط L.J.M
- اقراص Bacitracin
- شرائح زجاجية
- اصباغ Z.N
- مجهر
- لوازم تجربة حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية.
- اطباق اوساط زراعية SDA, CH.A, MacC., B.A.
- أنابيب اختبار
- حاضنة
- غطاء شريحة

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	امزج عينة البلغم بـ ٥% محلول هيدروكسيد البوتاسيوم KOH المعقم.	لإزالة المخاط.
٢.	عرض العينة للطرد المركزي وتخلص من الطافي.	لفصل وتركيز الجراثيم في الراسب.
٣.	أخفق اطباق الاوساط الزراعية Blood Agar و MacC. و Chocolate Agar بالعينة المركزة وضع في الحاضنة تحت درجة ٣٧م لمدة ٢٤-٤٨ ساعة.	لتنمية معظم انواع المسميات.
٤.	أخفق أنبوب الوسط L. J. Medium وطبق SDA واضغط تحت درجة حرارة الغرفة.	لتنمية عصيات المل
٥.	ضع اقراص Bacitracin المحتوية ١٠ وحدات فوق منطقة الحقن	لمعرفة حساسية مجموعة A من Beta-hemolytic Strep وقليل من

المجموعة B .	الأولى على سطح طبق الـ Chocolate Agar .	
لتحقيق التشخيص.	ارصد الصفات الزراعية وحاول تشخيص المسبب اذا امكن والا فاستخدم تجارب الصفات الشكلية ثم الكيميائية الحيوية ثم المصلية حيثما لزم الامر.	٦.
لمعرفة أنواع المضادات للحيوية القاتلة للبكتيريا .	اجري تجربة حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية.	٧.
للكشف عن الطفيليات.	حضر شريحة من الراسب بطريقة التحضير الرطب باستخدام المحلول الملحي وتحصنها مجهريا.	٨.
للكشف عن الفطريات.	حضر شريحة من الراسب بطريقة التحضير الرطب باستخدام 10% KOH وتحصنها مجهريا.	٩.
للكشف عن عصيات السل.	حضر لطخة من الراسب واصبفها بطريقة Z.N وتحصنها مجهريا.	١٠.
للكشف عن بعض انواع البكتيريا.	حضر لطخة من الراسب واصبفها بطريقة جرام وتحصنها مجهريا .	١١.
لارشاد الطبيب في المعالجة.	اكتب التقرير باسم الجرثومة المعزولة وحساسيتها للمضادات الحيوية.	١٢.

الفصل الثاني

علم الطفيليات الطبي

Medical Parasitology

الكفالية العملية - ٦٠ -

جمع وحفظ عينات البراز

الهدف:

أن يكون الطالب قادراً على إعطاء المريض التعليمات اللازمة لجمع عينة البراز وحفظ العينة لحين إجراء الفحص.

المبدأ:

يعتمد على حفظ العينة بعد جمعها للمحافظة على محتوياتها من الكائنات الدقيقة أو عمل تحضير وحفظه باستخدام وسط تغطية مناسب .

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة:

- حاوية كرتونية مشمعة من الداخل مع غطاء أو حاوية بلاستيكية مع غطاء.
- ثلاجة.
- شريحة زجاجية.
- كندا بلسم.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	اطلب من المريض جمع عينة البراز بشكل طبيعي داخل الحاوية وأغلقها.	جمع العينة .
٢.	ضع حاوية العينة في الثلاجة لحين الفحص.	لمنع موت الطفيليات.
٣.	إذا كانت العينة مائعة أو سائلة يجب فحصها خلال ساعة فقط.	لاحتتمال وجود أوليات في الطور التكاثري وهذه تموت بعد خروجها من جسم المائل بساعة
٤.	إذا أردت التخلص من حاوية العينة يمكن عمل تحضير رطب وتغطيته بغطاء شريحة ثم إحاطة غطاء للشريحة بمادة الكندا بلسم حتى تحافظ على رطوبة العينة.	أسلوب من أساليب الحفظ خاصة إذا كانت العينة محتوية على حويصلات الأوليات أو بيوض الديدان.
٥.	تجنب تسخين العينة أو تعريضها لمصدر حراري.	لمنع قتل محتوياتها من الكائنات الحية.
٦.	أضف إلى العينة ٣-٤ أضعاف حجمها من ١٠% محلول فورمالين واحفظ في الثلاجة.	لحفظ محتويات العينة لعدة سنوات.

الكفاية العملية - ٦١ -

فحص البراز ظاهريا

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على القيام بإجراء فحص ظاهري لمينة البراز .

المبدأ :

يعتمد على التركيز على القوام واللون ووجود الدم والمخاط وأجسام غريبة .

الأجهزة والاموات والمواد اللازمة :

• قناع وجهي • ورقة تقرير و قلم .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	ضع القناع على الوجه.	لتجنب الرائحة الكريهة.
٢.	افتح غطاء عينة المينة وتفحص مركزا على الصفات التالية : أ- القوام. ب- اللون. ج- وجود دم. د- وجود مخاط هـ- وجود اجسام غريبة.	لتحديد اذا كان مائلا-مائعا- صلبا. طبيعي بني فاتح، أو اللون القاتم ليذل على وجود الدم أو شحوب أو اختفاء اللون الطبيعي ليذل على انسداد القنوات الصفراوية . دلالة على النزيف المبرجي او المعدي او المعوي. دلالة على الاصابة الطفيلية او البكتيرية. مثل قطع الديدان او غيرها.
٣.	اكتب ما تشاهده على ورقة التقرير.	لارساله للطبيب.

الكفاية العملية - ٦٢ -

القيام بعمل التحضير الرطب (المباشر) لعينة البراز

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على القيام بعمل تحضير مباشر جيد لعينة البراز .

المبدأ :

يعتمد على استخدام محاليل تظهر الطفيل في مختلف أطواره بشكل واضح مثل محلول اليود والمحلول الملحي الطبيعي .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- عينة براز
- أعواد خشبية.
- محلول ملحي طبيعي
- محلول يود
- شرائح
- ورقة تقرير
- مغبرة
- اغشية شرائح

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	ضع قطرة من المحلول الملحي و/أو محلول اليود على سطح الشريحة.	المحلول الملحي للظهور التكاثري واليرقات ومحلول اليود للحوصلات والبيض .
٢.	خذ جزء بسيط من المنطقة المخاطية او المدممة من عينة البراز بوساطة المود الخشبي وامزجه مع قطرة المحلول على الشريحة.	لتحضير معلق.
٣.	تجنب بقاء اية اجزاء صلبة بارزة مع المعلق بوساطة رأس عود مكسور .	لتجنب تكون فقاعات هواء.
٤.	خذ غطاء الشريحة وضع حافته على حافة قطرة المعلق بشكل مائل ثم انزلها باتجاه الشريحة تدريجيا حتى تغطي قطرة المعلق بالكامل.	لتغطية قطرة المعلق وتجنب تكون فقاعات هواء.
٥.	ضع الشريحة تحت المجهر وشاهدها باستخدام العدسات الجافة ١٠ ثم ٤٠.	لإجراء المصحح لاستخدام العدسة ١٠ ثم التأكد من أي اشتباه باستخدام العدسة ٤٠ .
٦.	اكتب اسماء الاشياء غير الطبيعية التي تشاهدها على ورقة التقرير .	لتشخيص الحالة وارسالها للطبيب.

الكفاية العملية - ٦٣ -

تمييز الأشياء الطبيعية الموجودة في عينات البراز

الهدف :

ان يكون الطالب قادراً على تمييز الأشياء الطبيعية التي تتواجد في عينات البراز .

المبدأ :

يعتمد على المعرفة السابقة بالأشكال الطبيعية الموجودة في السبراز حتى لا يحدث لبس بينها وبين الأشياء غير الطبيعية (المرضية) .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- عينة براز
- شرائح زجاجية وغطية شرائح.
- محلول ملحي طبيعي ومحلول يود.
- المجهر
- المواد الخشبية.
- ورق تقرير

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	جهاز شريحة لعينة براز بطريقة التحضير المباشر (الرطب) بالمحلول الملحي واليود.	لتمثل ما تحويه العينة من أشياء طبيعية.
٢.	تفحص التحضير تحت المجهر مستخدماً العدسات الجافة.	تستخدم العدسات الجافة للتحضيرات الرطبة.
٣.	قارن ما تراه بلوحات توضح صور الأشياء الطبيعية الموجودة في عينات البراز وتشمل حبيبات النشا النباتية والألياف اللحمية المهضومة والصابون وقفاعات الهواء وقطرات الزيت وشعر النباتات والأبواغ الفطرية وحبات الفيلار والخمائر والخلايا البيضاء والخلايا الصديدية والخلايا الحمراء و Coccidia و Blastocystis.	للاستعانة بها على التمييز.
٤.	اكتب أسماء الاجسام التي تراها على ورقة التقرير اذا كان لها اهمية تشخيصية.	لتحديد الأشياء ذات الأهمية وإرسالها بتقرير للطبيب.

الكفاية العملية - ٦٤ -

تشخيص الاصابة بالاوليات والديدان المعوية

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على تمييز انواع واطوار الاوليات وبيضوض ويرقات الديدان المعوية.

المبدأ :

يعتمد على المعرفة السابقة بالشكل الاوليات المعوية بطوريسها الحوصلة والتكاثري والديدان بطوريسها البيوض واليرقات .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- عينة براز
- شرائح زجاجية
- غطاء شرائح
- أعواد خشبية
- محلول ملحي طبيعى
- محلول يود
- مجهر

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	جهاز شريحة لعينة البراز بطريقة التحضير المباشر (الرطب) بالمحلول الملحي ومحلول اليود.	لتمثل ما تحويه العينة من طفيليات وغيرها.
٢.	تفحص التحضير تحت المجهر مستخدما العدسة ١٠ ثم العدسة ٤٠ للتأكد مما تفك به تحت العدسة ١٠.	تستخدم العدسات الجافة للتحضيرات الرطبة.
٣.	قارن ما تراه بلوحات توضيح صور طور الحوصلة والطور التكاثري للاوليات المعوية وصور بيوض ويرقات الديدان المعوية.	لتحديد طور ونوع الطفيل .
٤.	اكتب اسم طور الطفيل الاولي او السودة المعوية التي شاهدها على ورقة التقرير.	لتحديد الطور والنوع وارسل النتيجة بتقرير الطبيب.

الكفاية العملية - ٦٥ -

فحص البراز بطريقة التركيز

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على تشخيص الإصابة المعوية باستخدام تقنية التركيز عن طريق:

- ١- الترسيب.
- ٢- التعويم.

المبدأ :

يعتمد على تجميع أكبر عدد ممكن من محتويات البراز الطفيلية في أقل حجم ممكن من المين

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- عينة البراز
- محلول ملحي طبيعي
- أنابيب اختبار
- أعواد خشبية
- شاش
- قمع
- جهاز طرد مركزي
- قطارة
- محلول اليود.
- مجهر .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	خذ ٢-٣ جرام تقريبا من عينة البراز وامزجها جيدا مع ٢٠ ملل من المحلول الملحي الطبيعي والايثر والفورمالين .	لعمل معلق ثم للتخلص من الدهون ثم التثبيت .
٢.	صف المعلق من خلال شاش في انبوب اختبار .	للتخلص من الشوائب الكبيرة والفضلات .
٣.	عرض للطرد المركزي بسرعة ١٥٠٠-٢٠٠٠ لفة/دقيقة ولمدة دقيقتين .	لفصل المواد الثقيلة عن الخفيفة .
٤.	خذ بواسطة قطارة من على المطح المائل الطافي وضع قطره منه على شريحة وغطها بغطاء الشريحة وتفحصها تحت المجهر .	تطبيق التعويم لفحص الطفيليات الخفيفة .

٥.	تخلص من الطافي	للابقاء على الراسب فقط
٦.	خذ جزء من الراسب وامزجه مع قطرة من المحلول الملحي الطبيعي او محلول اليود على شريحة زجاجية وغطسها بغطاء الشريحة وتحصنها تحت المجهر.	لعمل معلق من الراسب المركز لفحص الطفيليات النقيّة.
٧.	اكتب طور واسم الطفيل الذي تشاهده من القطرة العائمة او من معلق الراسب.	لاعطاء النتيجة

الكفاية العملية -٦٦-

تشخيص حالة الإصابة بالدودة الدبوسية بوساطة تقنية الشريط اللاصق

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على القيام بتقنية الشريط اللاصق لتشخيص الإصابة بالدودة الدبوسية *Enterobius Vermolularis*.

المبدأ :

يطلب الفحص عند عدم ظهور نتائج ايجابية في التحضير الرطب لعينة البراز أكثر من مرة رغم وجود الأعراض السريرية ويقوم الشريط اللاصق بالتقاط البيوض من مخبئها بين ثنايا الشرج. ويعتمد على المعرفة السابقة بشكل بيوض الدودة الدبوسية .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- شريط لاصق شفاف
- شريحة زجاجية
- قفازات
- مجهر

الرقم	الخطوات	المجربات
١.	اجلس المريض بوضع يجعل ركبتيه على الارض منحني الرأس والظهر باتجاه الامام بعد خلع الملابس.	للوصول الى الفتحة الشرجية بسهولة.
٢.	ارتدي القفازات الواقية ثم احضر قطعة شريط لاصق شفاف وضعها على فتحة الشرج واضغط عليها قليلا باتجاه الداخل محاولا ان يلامس الشريط بسطحه اللاصق جميع مناطق الشرج.	للوقاية ثم لجعل البيوض تلتصق بالشريط.
٣.	ثبت الشريط اللاصق على شريحة زجاجية نظيفة.	لكي تكون الشريحة قاعدة للشريط اللاصق.
٤.	فحص الشريحة تحت المجهر مستخدما العدسات الجافة .	للتأكد من وجود البيوض.
٥.	اكتب التقرير مشيرا الى وجود او عدم وجود بيوض الدودة الدبوسية.	لارسالة للطبيب للمعالجة

الكفاية العملية - ٦٧ -

تشخيص الاصابة بالاوليات والديدان الدموية والنسجية

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على تمييز انواع واطوار الاوليات والديدان الدموية والنسجية.

المبدأ :

يعتمد على المعرفة السابقة بأشكال واطوار الاوليات والديدان الدموية والنسجية وعلى جمع العينة الصحيحة في الوقت الصحيح .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- عينة دم و/أو افرازات الانسجة المصابة.
- شرائح زجاجية واغطية شرائح
- اصباغ ليشمان أو رايت .
- زيت غمر
- ماء مقطر .

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	جهز شريحة لعينة دم و/أو افرازات نسجية لموقع الاصابة بطريقة التحضير المباشر (الرطب) و/أو بنشرها وعمل لطخة مواء رقيقة ام سمكة.	لمشاهدة الطور المتحرك و/أو غير المتحرك.
٢.	غط التحضير الرطب بغطاء شريحة وشاهده تحت المجهر مستخدما العدسات الجافة.	للحفظ المؤقت والحصول على سمك ثابت للمعلق وللمشاهدة .
٣.	جفف اللطخة وثبتها واصبغها بطريقة جيمسا او ليشمان او رايت وضع قطرة زيت وشاهدها مجهريا تحت العدسة الزيتية.	لمشاهدة الطفيل مصبوغا.
٤.	قارن ما تراه بلوحات توضيح صوراً لمختلف اطوار الاوليات والديدان الدموية والنسجية.	للتعرف على طور ونوع الطفيل الموجود .
٥.	اكتب اسم طور الطفيل الاولي او الحدودة التي شاهدها على ورقة التقرير.	لإرسالها للطبيب .

الكفاية العملية - ٦٨ -

تحضير لائحة (فيلم) دم رقيق وصبغها

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على عمل لائحة (فيلم) دم رقيق على شريحة زجاجية وصبغها والتعرف على نوع طفيل الدم الموجود.

المبدأ :

يعتمد على استخدام قطرة دم صغيرة الحجم لكي نشاهد الطفيليات وخلايا الدم وهي بعيدة ومتفرقة عن بعضها البعض ليسهل تشخيصها على مستوى النوع والطور .

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- شرائح زجاجية نظيفة.
- عينة دم (أو واخزة معقمة مع قطنة مبللة بالكحول).
- صبغة ليشمان أو رايت أو جيمسا.
- مجهر .
- زيت غمر .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	خذ قطرة دم صغيرة من رأس الإصبع بمد وخزه بالواخزة المعقمة أو من عينة وريدية مجموعة في أنبوب اختبار ، وضعها على طرف شريحة زجاجية نظيفة.	جمع العينة وتمهيدا لنشرها على الشريحة.
٢.	انشر قطرة الدم بشكل متناسق وذلك بوساطة وضع شريحة أخرى على حافة قطرة الدم وبزاوية ٤٥ درجة اسحب الشريحة العلوية باتجاه الطرف البعيد عن قطرة الدم.	لتحضير اللائحة (الفيلم).
٣.	جفف الفيلم في الهواء وأوسمه.	تمهيدا للصبغ ولمنع حدوث لبس.
٤.	أصبغ الفيلم بوساطة صبغة ليشمان أو رايت أو جيمسا كما هي واردة لاحقا.	لتسهيل التشخيص.
٥.	جفف باستخدام ورقة ترشيح ثم أضف قطرة زيت غمر وشاهدها تحت المجهر مستخدما العدسة الزيتية.	للتخلص من الماء ووضع الزيت ليلعب دور العدسة المكثفة
٦.	ابحث عن الطفيل الموجود وقارن بالصور المتوفرة لديك للتعرف على نوعه.	للاستعانة بالصور للتعرف على الطفيل الموجود.

الكفاية العملية - ٦٩ -

تحضير لطخة (دم) سميكة وصبغها ومشاهدتها مجهرياً

الهدف:

أن يكون الطالب قادراً على عمل لطخة (فيلم) دم سميكة على شريحة زجاجية وصبغها والبحث عن وجود طفيليات الدم بعامة والملاريا بخاصة.

المبدأ:

استخدام قطرة دم بحجم كبير لأنها ستحتوي على عدد أكبر من الطفيل في حالة الإصابة.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة:

- شرائح زجاجية نظيفة.
- عينة دم (أو واخزة معقمة مع قطنة مبللة بالكحول).
- صبغة ليشمان أو رايت أو جيمسا أو Field.
- مجهر.
- زيت غمر.

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	خذ قطرة دم كبيرة مواء من وخزة إصبع أو من عينة وريدية ووضعه على وسط شريحة زجاجية نظيفة.	جمع العينة وتمهيدا لنشرها على الشريحة.
٢.	انشر قطرة الدم بواسطة ابرة أو بزاوية الشريحة باتجاه اليمين والشمال.	للحصول على فيلم سميك.
٣.	حاول أن يكون سمك اللطخة لدرجة إمكانية رؤية الإصبع عند وضعه تحت الشريحة.	للتحكم في مقدار السمك.
٤.	جفف الفيلم في الهواء.	تمهيدا لإزالة الهيموجلوبين.
٥.	اغمر الشريحة في محلول خليط من حامض الخليك الثلجي وحامض التترتيك Tartaric acid حتى يزول اللون الأحمر ويصبح الفيلم شاحبا.	لإزالة الهيموجلوبين حتى يسهل رؤية الطفيل.
٦.	اغمر الشريحة في الميثانول لمدة ٣-٥ دقائق.	للتثبيت.
٧.	اغسل الشريحة بماء مقطر قاعدي خفيف.	لإزالة أي أثر للحامض.
٨.	اغمر الشريحة بالماء المقطر لمدة ٥-١٠ دقائق.	للتأكد عدم وجود أي أثر للمحلول المابقة.
٩.	اصبغ الشريحة باستخدام صبغة ليشمان أو رايت كما هي واردة لاحقا.	لصبغ الطفيل وخلايا الدم.

١٠.	إذا استخدمت صبغة Field ضع الفيلم في محلول أ المحتوي على الميثيل الأزرق. مع Buffer ولمدة ثانية واحدة.	تستخدم خصيصا للكشف عن طفيل الملاريا. واكتساب الصبغة الزرقاء من قبل المواد النووية.
١١.	ضع الشريحة في ماء جار حتى تتوقف الصبغة عن السيلان من على الشريحة.	للتخلص من بقايا الصبغة.
١٢.	ضع الشريحة في محلول ب المحتوي على الايوسين مع Buffer ولمدة ثانية واحدة.	لاكتساب اللون الأحمر من قبل الميتوبلازم.
١٣.	اغمر في ماء نظيف لمدة ٢-٣ ثوان.	للتطيف والتخلص من بقايا الصبغة.
١٤.	جفف وضع قطرة زيت غمر وشاهد مجهرًا تحت العدسة الزيتية.	للتخلص من الماء وتجميع الأشعة من خلال قطرة الزيت.
١٥.	ابحث عن وجود الطفيل بشكل مركز وقارن بالصور المتوفرة لديك.	لتواجد الطفيل بأعداد كبيرة في الفيلم المميك.

الكفاية العملية - ٧٠ -

عمل لطخة (فيلم) رقيق وسميك على شريحة واحدة.

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على عمل لطخة (فيلم) رقيق وسميك على شريحة زجاجية واحدة وعمل المسح اللازم للعينة.

المبدأ :

يعتمد على استخدام قطرتين من الدم واحدة كبيرة والثانية صغيرة الحجم ليتم الكشف عن وجود الطفيل في الفيلم السميكة ومعرفه نوع وطور الطفيل في الفيلم السميكة الرقيق .

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة:

- شرائح زجاجية نظيفة.
- عينة دم.
- صبغة جيمسا أو ليشمان أو رايت.
- مجهر.
- زيت غمر.

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	خذ قطرة دم على بعد نصف إنش من طرف الشريحة وقطرة ثانية على بعد إنش من الطرف الثاني.	لاستخدام الأولي للفيلم السميكة والثانية للفيلم الرقيق.
٢.	أزل الهيموجلوبين من الفيلم السميكة كما ورد في الفيلم السميكة سابقا.	لتسهيل الكشف عن وجود الطفيل.
٣.	حدد فاصلا بين الفيلمين بقلم الرصاص.	للتعامل مع كل فيلم على حده.
٤.	أضف صبغة ليشمان غير المخففة فوق الفيلم الرقيق.	للصبغ.
٥.	خفف بالماء المقطر وأغمر الفيلم السميكة كذلك.	لإذابة الرواسب من الصبغة وتسهيل غسل الفائض من الصبغة.
٦.	أو أضف الميثانول ثم جفف.	للتثبيت.
٧.	اغمر الشريحة بصبغة جيمسا المخففة لمدة ٣٠-٦٠ ثانية.	للصبغ.
٨.	اغسل وجفف وأضف قطرة الزيت وشاهد تحت المجهر.	للتخلص من الصبغة ثم من الماء ثم لتوضيح الرؤيا.

الكفاية العملية - ٧١ -

الكشف عن وجود الدم الخفي Occult Blood في عينات البراز

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على القيام باجراءات الكشف عن وجود دم خفي في عينات البراز.

المبدأ :

يعتمد على التفاعل بين الهيمجلوبين السذي يقوم بسدور Oxidase مع Strontium Peroxide ويعطي أكسجين حر ليؤكسد Orthotolidin ويحول لونه الأصفر إلى اللون الأزرق أو الأخضر .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- عينة براز
- أعواد خشبية
- ورقة الترشيح الخاصة بالفحص
- محلول الفحص (Strontium Peroxide & Orthotolidin) .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	خذ جزء بسيط من عينة البراز بوساطة عود خشبي ونشرها على ورقة الترشيح الخاصة بها محضرا لطفة برازية.	عمل لطفة برازية على ورقة الفحص.
٢.	اضف الى اللطفة قطرة أو قطرتين من محلول الفحص .	لجعل محلول الفحص يتفاعل مع الدم ان وجد.
٣.	لاحظ تكون لون ازرق ليدل على النتيجة الايجابية.	بسبب تأكسد Orthotolidin
٤.	قارن اللون المتكون مع اللون الميباري الايجابي Positive Control المرفق على ورقة الفحص.	للتحقق من صلاحية محلول ورقة الفحص ولمقارنة النتيجة.

الكفاية العملية - ٧٢ -

عمل تحضير دائم لعينة براز وصبغه ومشاهدته مجهريا

الهدف:

أن يكون الطالب قادرا على عمل تحضير دائم لعينة براز وحفظ العينة على شكل تحضير دائم.

المبدأ:

يعتمد على تجفيف التحضير وصبغه وتغطيته بوسط تغطية مناسب مع غطاء للشريحة .

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- شريحة وغطاء شريحة.
- العينة.
- محلول Schaudinn.
- محلول كحول ٧٠ % ، ٩٥ % ، ١٠٠ %.
- محلول شبة الحديد.
- صبغة الهيماتوكسيلين.
- حامض البكريك.
- محلول الزايلين
- كندا بلمس

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	ضع قطرة من محلول ملحي طبيعي على شريحة زجاجية ثم أضف إليها قليلا من عينة البراز وامزج وانشر.	تحضير المعلق ثم اللطخة Smear
٢.	أضف إلى اللطخة محلول Schaudinn المضاف إليه حامض الخليك الثلجي الممغن إلى درجة ٦٠ م لمدة دقيقتين.	التثبيت.
٣.	اغمر اللطخة في ٧٠ % كحول مضافا إليه كمية من اليود ثم في ٥٠ % كحول لمدة دقيقتين لكل منهما.	للتثبيت.
٤.	اغسل بالماء الجاري لمدة دقيقتين.	للتخلص من بقايا الكحول واليود.
٥.	اغمر الشريحة في ٢ % محلول شبة الحديد تحت درجة ٤٠ م لمدة دقيقتين.	كمحول مرسخ.
٦.	اغسل بالماء الجاري لمدة ثلاث دقائق.	للتخلص من المحلول السابق.
٧.	اغمر اللطخة في صبغة الهيماتوكسيلين لمدة ١٠-١٥ دقيقة.	لصبغ المواد النووية.
٨.	اغسل بالماء الجاري لمدة دقيقتين.	للتخلص من بقايا الصبغة.
٩.	أضف محلولاً مشبعاً من حامض البكريك لمدة ٥ دقائق.	محلول تمييز.

	البكريك لمدة ٥ دقائق.	
للتخلص من بقايا المحلول السابق.	اغسل بالماء الجاري لمدة ١٠-١٥ دقيقة.	١٠.
امسح الماء من التحضير.	اغمر الشريحة في كحول ٧٠% ثم ٩٥% ثم كحول مطلق لمدة دقيقتين لكل تركيز.	١١.
للتنقية والتشفيف.	اغمر الشريحة في محلول الزايلين Xylene لمدة ٢٠-٦٠ ثانية.	١٢.
لحفظ التحضير وثبيت غطاء الشريحة عليه.	أضف قطرة من كندا باسم Canada Balsam إلى اللطخة وغطها بغطاء شريحة زجاجي مناسب واسمح لها بالجفاف.	١٣.

الفصل الثالث

علم المناعة والأمصال

Immunology & Serology

الكفافية العملية -٧٣-

اخضاع عينة المصل للمعالجة لتجنب ظهور نتائج ايجابية خاطئة

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على معالجة عينة المصل قبل الشروع بفحصها لتجنب ظهور نتائج ايجابية خاطئة وتشمل :

أ- معالجة فيزيائية (Inactivation)
ب- معالجة مناعية .

المبدأ :

التخلص من المكمل ومن الأجسام المضادة غير المتخصصة لتجنب ظهور نتائج ايجابية خاطئة .

الأجهزة والالات والمواد اللازمة :

- عينة المصل + حمام مائي .
- Buffer + معلق انتجيني غير متخصص .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	أ. معالجة فيزيائية : اسحب عينة الدم واسمح بتجلطها .	مصدر العينة
٢.	افصل باستخدام الطرد المركزي .	للحصول على المصل الصافي
٣.	اسحب عينة المصل وضعها في انبوب اختبار نظيف .	لعزل المصل عن باقي الدم.
٤.	ضع انبوب المصل في حمام مائي تحت درجة ٥٦م لمدة ٣٠ دقيقة .	لتثبيط المكمل والاجسام المضادة غير المتخصصة التي تتأثر بالحرارة.
٥.	اخرج عينة المصل بعد ذلك لتصبح جاهزة للفحص .	لانتهاء فترة التكميل .
١.	ب. معالجة مناعية : خذ كمية محدودة من المصل ولتكن ٠.١ ملل	العينة موضوع المعالجة .
٢.	اضف اليها محلول منظم مثل BABS ولتكن ٠.٤ ملل .	وسط جيد للتفاعل .

٣.	اضف اليها معلق انتجين غير متخصص ولتكن ٥,٥ ملل .	للتفاعل مع الاجسام المضادة غير المتخصصة ومحبها من العينة .
٤.	امزج وانتظر تحت درجة حرارة الغرفة .	حضانة للتفاعل .
٥.	رسمب باستخدام الطرد المركزي وتخلص من الراسب بسحب الطافي (المصل المعالج) .	لفصل المصل المعالج عن بقية المواد .

الكفاية العملية - ٧٤ -

استخدام تفاعل التخثر باللاتكس على الشريحة

Test Slide Latex Agglutination

في الفحوصات التالية :

RPR, VDRL, CRP, R.F, Brucella, Pregnancy test,

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على القيام بتفاعل التخثر على الشريحة لتشخيص أي مرض يقوم مبداه على التخثر .

المبدأ :

يعتمد على إضافة الانتيجين أو الجسم المضاد (المعلوم) للكشف عن (المجهول) الجسم المضاد أو الانتيجين. وذلك بسبب التخصصية في التفاعل بينهما وفي وجود الكاشف يظهر تكتلا أو تجمعا كمؤشر على ايجابية التفاعل.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- شريحة خاصة للفحص .
- الانتجين الخاص بالفحص اذا اريد الكشف عن الاجسام المضادة في العينة .
- الاجسام المضادة الخاصة بالفحص اذا اريد الكشف عن الانتجين في العينة .
- عينة دم او بول .
- عودان خشبيان ، قطارة .
- جهاز طرد مركزي .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	اجمع عينة الدم واسمح لها بالتجلط ثم افصل المصل بدون تحلل .	الحصول على مصل صافي خالي من التحلل .
٢.	اذا كانت عينة البول عكرة رسب على جهاز الطرد المركزي .	التخلص من العكورة لتجنب ظهور نتائج ايجابية خاطئة .
٣.	اضف قطرة من العينة الى حلقة الشريحة .	المشروع بالفحص .

٤.	اضف الى المينة قطرة من محلول التجربة (انتجين او لجسام مضادة) .	فتح مجال لبدء التفاعل بين الانتجين والجسم المضاد .
٥.	امزج القطرتين بوساطة عود خشبي مزجا جيدا .	لقاء المتفاعلات .
٦.	حرك الشريحة يمينا ويسارا بشكل دوراني للفترة الزمنية الموضحة في نشرة الشركة الصانعة لمواد الفحص .	اعطاء زمن لحدوث التفاعل .
٧.	عامل المصل الايجابي والمساوي بنفس المعاملة .	للتحقق من صلاحية المواد ومقارنة نتيجة الفحص بالنتيجة الايجابية الضابطة (Control) .
٨.	اقرأ النتيجة بعد الزمن اللازم والموضح في النشرة وقارن بنتيجة الضابط الايجابي .	اخذ النتيجة .

الكفائية العملية -٧٥-

الكشف عن الحمل باستخدام تفاعل منع التثثر على الشريحة (Agglutination Inhibition)

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على اجراء فحص الحمل او أي فحص يخضع لنفس المبدأ واخذ النتيجة الصحيحة بطريقة منع التثثر.

المبدأ :

يعتمد على مقابلة عينة البول كحامل لهرمون GCH اهما سجا متفاضلا المصادرة فإذا كان الهرمون موجودا سيكون مركبا مناعيا وعند إضافة جاما جلوبيولين مغطى لجزيئات اللاتكس (كاشف) أو هرمون HCG مغطى لجزيئات اللاتكس فلن يحصل تثثرا وهذا يدل على النتيجة الايجابية، بينما إذا لم يتوفر الهرمون في العينة فلن يتكون مركبا مناعيا وعند إضافة الجاما جلوبيولين مع اللاتكس أو HCG مع اللاتكس سوف يتفاعل مع الأجسام المضادة ويظهر تثثرا ليبدل على النتيجة السلبية .

الأجهزة والاموات والمواد اللازمة :

- شرائح خاصة بالفحص.
- محلول (globulin- δ) أو HCG مغطى للاتكس
- عينة بول صافية
- عودان خشبيان او بلاستيكيان.
- عينة متصل
- محاليل معيارية ايجابية وسلبية.
- اجسام مضادة لـ HCG

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	حضر شريحة موداء نظيفة ثم اصف اليها قطرة من البول او المصل .	الشروع بالفحص وإضافة العينات.
٢.	اضف الى قطرة البول او المصل قطرة من محلول الأجسام المضادة للهرمون Anti - (HCG)	للقاء بين HCG في العينة مع مضاده
٣.	اضف اليهما قطرة من محلول (globulin- δ) مغطى لجزيئات اللاتكس أو HCG مغطى لجزيئات اللاتكس وامزج باستخدام عود خشبي او بلاستيكي.	لكي يتفاعل مع Anti - HCG اذا لم يحدث تفاعل في الخطوة السابقة مع HCG في العينة (كاشف) .

٤.	عامل المحلول المعيارى السلبى والايجابى بنفسم المعاملة .	للتأكد من صلاحية المواد ومقارنة نتيجة الفحص بها.
٥.	حرك الشريحة بالدوران لمدة ٢-٣ دقائق او حسب تعليمات نشرة الشركة الصانعة.	لاعطاء فرصة لحدوث التفاعل .
٦.	لاحظ ظهور التخثر من عدمه .	اذا ظهر تخثر دل على النتيجة السلبية اذا لم يظهر تخثر دل على النتيجة الايجابية .يجب ان يظهر تخثرا فى قطرة المحلول السلبى ولا يظهر تخثرا فى المحلول الايجابى .

الكفاية العملية - ٧٦ -

المعايرة المصلية للفحوصات ASO, Widal, Brucella, TORCH

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على حساب التخفيفات المتدرجة المختلفة وإجراء ذلك في أنابيب الاختبار لاستخدامها في الفحوصات المصلية المذكورة أعلاه .

المبدأ :

يعتمد على عمل تراكيز متفاوتة لعينة مصل أو أية عينة أخرى ويحتاج ذلك إلى حسابات تعتمد على نظام التخفيف المطلوب سواء تضاعفيا أم عشريا . ويعتمد كذلك على معرفة التركيز الطبيعي للمادة المراد معرفة تركيزها سواء الأنتيجين أو الجسم المضاد وعند عمل تخفيف متدرج للعينة يضاف إليها كمية ثابتة من المتفاعل الآخر وتؤخذ النتيجة على أساس أعلى تخفيف يظهر نتيجة ايجابية .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- عينة مصل
- أنابيب اختبار
- ماصات .
- أنابيب اختبار .
- كاشف (مثل معلق خلايا حمراء) .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	حضر عددا من الأنابيب النظيفة حسب عدد التخفيفات المراد تحضيرها ورقمها ١، ٢، ٣، ٤.... الخ .	أوعية لإجراء التخفيف .
٢.	أ- اصف ٩ ملل من محلول التخفيف إلى جميع الأنابيب، ثم اصف إلى الأنبوب رقم (١) ١ ملل من العينة، امزج جيدا، انقل ١ ملل من الأنبوب رقم (١) إلى الأنبوب رقم (٢) ثم امزج جيدا، انقل ١ ملل من الأنبوب رقم (٢) إلى رقم (٣) ثم من (٣) إلى (٤) وهكذا، خذ ١ ملل من الأنبوب الأخير وتخلص منه خارجا. ب- اصف ١ ملل من محلول التخفيف (Buffer or N.S) إلى جميع الأنابيب، اصف إلى الأنبوب رقم (١) ١ ملل من العينة، امزج ثم انقل ١ ملل من الأنبوب رقم (١) إلى الأنبوب رقم (٢) ثم امزج وانقل ١ ملل من (٢) إلى (٣) وهكذا.	خطوات التخفيف العشري ١٠، ١٠٠، ١٠٠٠، ١٠٠٠٠.... الخ.
٣.	اضف كمية ثابتة من المتفاعل الآخر (الانتجين او الجسم المضاد) .	خطوات التخفيف التضاعفي ٢٠، ٤٠، ٨٠.... الخ . لاتمام لقاء المتفاعلات (Ab+Ag)

٤.	احضن في درجة حرارة مناسبة ولمدة مناسبة حسب التعليمات	استرويده بطرروف التفاعل المناسبة
٥.	اضف الكاشف	لاظهار النتائج .
٦.	احضن في درجة الحرارة المناسبة والوقت المناسب حسب التعليمات.	لاعطاء الكاشف فرصة لاطهار النتيجة .
٧.	اقرأ النتيجة كأعلى تخفيف يظهر نتيجة ايجابية .	اخذ النتيجة النهائية .

الكفاية العملية - ٧٧ -

اجراء تجربة تثبيط تخثر الدم

Haemagglutination Inhibition Test

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على القيام بخطوات تجربة تثبيط تخثر الدم وقراءة النتيجة .

المبدأ :

عند إضافة أنتيجين متخصص لأجسام مضادة في عينة مجهولة فإن مركبا مناعيا يتكون وعند إضافة معلق خلايا حمراء لن يحصل تخثرا ونقول بأن وجود الأجسام المضادة تثبط تخثر الدم بفعل الأنتيجين بينما إذا لم تتواجد الأجسام المضادة في العينة فإن الأنتيجين سيتفاعل مع الخلايا الحمراء ويحصل تخثرا مشيرا للنتيجة السلبية . يمكن البحث في عينة المصل عن الأنتيجين أحيانا بدلا من الأجسام المضادة ويعتمد ذلك على نوع الفحص .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- عينة مصل المريض وتمثل الاجسام المضادة او الأنتيجين .
- معلق خلايا حمراء مثبتة .
- أنتيجين / او اجسام مضادة .
- محلول منظف Buffer .
- انابيب اختبار وماصات .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	عالج المصل مناعيا أو فيزيائيا . وحسب تعليمات الشركة الصانعة .	لتجنب حدوث نتائج ايجابية خاطئة
٢.	حضر انابيب اختبار بعدد مرات التخفيف المطلوب .	لاجراء التفاعلات فيها .
٣.	حضر تخفيف متدرج لعينة المصل في الانابيب مع المحلول المنظف Buffer .	الحصول على تركيز الاجسام المضادة او الأنتيجين في العينة .
٤.	اضف كمية ثابتة من الأنتيجين اذا كان الهدف الكشف عن الأجسام المضادة والعكس صحيح .	اضافة المتفاعل الثاني .
٥.	احضن في درجة حرارة ولوقت مناسبين حسب التعليمات .	لاعطاء فرصة للتفاعل في اجواء ولفترة مناسبة .

٦.	اضف معلق الخلايا الحمراء واحضن حسب التعليمات.	اضافة الكاشف وتزويده بالظروف والوقت المناسبين للتفاعل.
٧.	خذ النتيجة كأعلى تخفيف يظهر عدم تخثر .	قراءة النتيجة النهائية .
٨.	يجب على الضابط السالبى Neg. Control ان يظهر تخثرا كاملا.	التحقق من صلاحية المواد والمقارنة به كنموذج للنتيجة .

الكفاية العملية - ٧٨ -

اجراء تفاعل الترسيب بالانتشار الثنائي على الآجار

Agar double diffusion

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على اجراء تفاعل الترسيب باستخدام تقنية الانتشار الثنائي على طبق يحوي آجار Agar وان يكون قادرا على تمييز خط الترسيب المتكون بين المتفاعلين .

المبدأ :

يعتمد على انتشار المتفاعلين باتجاه بعضهما البعض وعند اللقاء يتكون راسب أبيض يظهر بوضوح على سطح الآجار .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- طبق بتري يحتوي على آجار Agar .
- عينة المريض (تمثل الانتجين او الجسم المضاد)
- المتفاعل الآخر (يمثل الجسم المضاد او الانتجين) .

الرقم	الخطوات	المهمات
١.	افتح حفرتين منتظمتين شكلا وحجما في الآجار متباعدتين بحوالي اسم.	عمل وعاء للمتفاعلين .
٢.	املا احدهما بمصل المريض واملا الاخرى بالمتفاعل الثاني (اذا كان الهدف من التجربة الكشف عن الانتجين في دم المريض فيجب اضافة اجسام مضادة متخصصة والعكس صحيح) .	احداث لقاء بين المتفاعلين الانتجين والجسم المضاد .
٣.	ضع الطبق في الثلاجة لمدة ٤-٦ ساعات ، ثم اقرأ النتيجة .	درجة حرارة مناسبة لاتمام التفاعل.
٤.	ان تكون خط ترسيب بلون ابيض بين الحفرتين يدل على النتيجة الايجابية.	مؤشر على النتيجة الايجابية.
٥.	عامل عينة ضابطة ايجابية بنفس المعاملة .	للتأكد من صلاحية المواد ومشاهدة التمازج النتيجة الايجابية .

الكفاية العملية - ٧٩-

إجراء تجربة حساسية الجلد

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على القيام بإجراءات فحص حساسية الجلد.

المبدأ :

يحقن الإنسان بالأنتجين للكشف عن وجود الأجسام المضادة أو بالأجسام المضادة للكشف عن الأنتجين أو بالمضاد الحيوي لمعرفة حساسية الشخص لذلك المضاد الحيوي.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة:-

- حقنة مع إيبرة رفيعة.
- قطنة مبللة بالكحول.
- المادة المراد حقنها في الجسم.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	إملاء الحقنة بالمادة المراد حقنها في الجسم	لتجهيزها للحقن
٢.	امسح باطن ذراع المريض بالكحول بشكل جيد.	للتطهير ومنع تلوث الجرح
٣.	انزع غطاء الإبرة وأغرس رأس الإبرة تحت الجلد وادخلها أفقيا لمسافة ٥ مم	تمهيدا لتفريغ المادة المراد حقنها ولتجنب دخول الإبرة إلى الأنسجة تحت الجلدية.
٤.	ارفع رأس الإبرة إلى الأعلى قليلا لتتري ارتفاع الجلد.	للتأكد من أن رأس الإبرة تحت الجلد بشكل صحيح.
٥.	فرغ حوالي ٥ ملل من المادة تحت الجلد.	عملية الحقن لملاحظة التفاعل.
٦.	ارسم دائرة حول قطرة الحقن بقطر ٥ سم تقريبا في حالة المضادات الحيوية وانتظر المدة اللازمة في تعليمات الفحص (١٥-٣٠ دقيقة للمضادات الحيوية).	تعتبر مساحة مناسبة لإصدار الحكم على النتيجة والانتظار لإتمام التفاعل.
٧.	لاحظ امتلاء الدائرة بالاحمرار من عدمه.	لتدل على النتيجة الإيجابية
٨.	قد نحتاج في بعض فحوصات تحسس الجلد إلى حقنة ضابطة Control ايجابية أو سلبية أو الأنتجين.	لمقارنة النتائج والتأكد من صلاحية المواد المستخدمة.

الكفاية العملية - ٨٠ -

استخدام تخثر الدم في الكشف عن الأجسام المضاد الباردة —

M.pneumonia

الهدف :

أن يكون الطالب قادراً على القيام بإجراءات فحص الكشف عن الأجسام المضادة الباردة لـ M.pneumonia وتفسير النتيجة.

المبدأ :

تستطيع الأجسام المضادة للمايكوبلازما أن تخثر الخلايا الحمراء للإنسان تحت درجة صفر - ٤ مئوية وليس ٣٧ مئوية ، ولذلك سميت بالأجسام المضادة الباردة المخثرة Cold agglutinins . يمكن تشتيت وتبييد هذا التخثر إذا وضعت بدرجة ٣٧ مئوية . يعتبر التركيز الطبيعي لهذه الأجسام المضادة ٤٠ وإذا كان التركيز ١٦٠ فما فوق تكون النتيجة تشخيصية لالتهاب الرئة بالمايكوبلازما.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة:

- عينة مصل.
- معلق خلايا حمراء مفسولة من فصيلة O
- أنابيب اختبار.
- ثلاثية.
- حاضنة.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	إجمع عينة دم المريض والفصل المصل بدرجة حرارة ٣٧ مئوية.	لان الأجسام المضادة المراد البحث عنها موجودة في مصل المريض.
٢.	حضر معلق خلايا حمراء مفسولة من فصيلة O	سيستخدم كـ أنتجين ولان الفصيلة O خالية من الأنتجينات.
٣.	خفف مصل المريض تدريجياً Serial dilution ثم أضف إليه كمية ثابتة من الأنتجين تتناسب مع حجم المصل المخفف.	للحصول على تراكيز متدرجة من الأجسام المضادة في المصل.
٤.	أحضر في الثلاثية لليوم التالي.	درجة حرارة الحضانة وإعطاء التفاعل مدة كافية.
٥.	أخرج الأنبوب من الثلاثية وتفحصه .	لملاحظة التخثر وأخذ النتيجة .
٦.	سخن الأنابيب لدرجة ٣٧م ثم اقرأ بعد ساعتين	للتأكد من أن التخثر نتج عن وجود الأجسام المضادة المخثرة ولأنه سيختفي بالحرارة.

٧. يفضل استخدام مصل معياري ايجابي +ve control	للمقارنة والتأكد من صلاحية المواد.
--	---------------------------------------

الكفاية العملية - ٨١ -

استخدام فحص Paul-Bunnell لتشخيص داء وحيدات النواة الأنتاني

Infectious mononucleosis أو الحمى الغدية

الهدف:

أن يكون الطالب قادرا على القيام بإجراءات فحص Bunnell-Paul واخذ النتيجة.

المبدأ:

يتسبب هذا المرض من فيروس اسمه Epstein-Barr من مجموعة الهربس ونتيجة لذلك تتكون أجسام مضاده مختفر للخلايا الحمراء للخراف والبقر والثيران ولا تتفاعل هذه الأجسام المضادة مع انتجينات كلية الخنزير الأفريقي Guinea-pig. تلتصق الأجسام المضادة المتخصصة مع الخلايا الحمراء للخراف والبقر والثيران لأنها متخصصة بينما تلتصق الأجسام المضادة غير المتخصصة Heterophil Abs مع انتجينات كلية الخنزير الأفريقي ويتم مفاعلة مصل المريض مع انتجينات كلية الخنزير الأفريقي للتخلص من الأجسام المضادة غير المتخصصة لتجنب ظهور نتائج إيجابية خاطئة للفحص. تتفاعل الأجسام المضادة للفيروس مع انتجين لولبيات الزهري ولذلك لا تعبر نتيجة الفحص قطعية confirmatory.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة:

- عينة مصل المريض
- حمام مائي
- انتجينات Paul-Bunnell
- والمكونة من:
- أ. خلايا كلية الخنزير الأفريقي.
- ب. الخلايا الحمراء للثور.
- معلق خلايا حمراء للخراف
- ٢% في محلول ملحي.
- أنابيب اختبار.
- جهاز طرد مركزي.
- مرآة مقعرة.

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	سخن عينة المصل في الحمام المائي تحت ٥٦ درجة مئوية لمدة ٣٠ دقيقة.	للتكميل ولتجنب ظهور نتائج إيجابية خاطئة.
٢.	حضر ٣ أنابيب اختبار مضافا للأول ٢، ملل مصل و٨، ملل محلول ملحي طبيعي. وللثاني ٢، ملل مصل و٨، ملل انتجين كلية الخنزير الأفريقي وللثالث ٢، ملل مصل و٨، ملل انتجين الخلايا الحمراء للثور.	يعتبر الأنبوب الأول ضابط سلبي Neg. Control وفي الثاني يتم التخلص من الأجسام المضادة غير المتخصصة لتجنب النتائج الإيجابية الخاطئة. وفي الثالث تلتصق الأجسام المضادة المتخصصة فقط مع الخلايا الحمراء للثور.

٣.	انتظر لمدة ١٠ دقائق في درجة حرارة الغرفة مع التحريك بين الوقت والآخر.	فترة وظروف مناسبين للتفاعل.
٤.	رسم باستخدام جهاز الطرد المركزي لمدة ٥ دقائق واجمع الطافي.	لتجميع الأجسام المضادة المرتبطة مع الأنسجينات المضادة في الخطوة قبل السابقة في الراسب ويحتوي الطافي على أجسام مضادة متخصصة في الأنبوب الثاني وسيحتوي طافي الأنبوب الثالث على أجسام مضادة غير متخصصة بينما يحتوي الأول على الجميع.
٥.	جهاز ٣ سلامل من التخفيف المتدرج للمحلول الطافي من الأنابيب الثلاثة الواردة في الخطوة السابقة حيث يكون تخفيف المصل ٥:١ وأضف إليها محلول ملحي طبيعي بطريقة التخفيف المتدرج ليصبح التخفيف ٥:١ , ١٠:١ , ٢٠:١ وحتى ١٢٠:١ وأنبوب Control ضابط للخلايا الحمراء.	لعمل تخفيف متدرج للمينة بعد المعالجة ومفاعلتها مع معلق الخلايا الحمراء للخراف وملاحظة أعلى تخفيف يظهر نتيجة ايجابية.
٦.	أضف إلى كل أنبوب كمية ثابتة من معلق الخلايا الحمراء للخراف.	لإظهار تآثر مع الأجسام المضادة لفيروس EB
٧.	امزج جيدا وانتظر لمدة ١٠ دقائق بدرجة حرارة الغرفة.	فترة حضانة للتفاعل.
٨.	رسم مركزيا لمدة ٥ دقائق.	لمنع حدوث لبس في قراءة النتيجة.
٩.	اقرأ النتيجة فوق مرآة مقعرة حيث يظهر المريض تركيزا أعلى من ٨٠ ويظهر المصل التصاقا لأنسجين الخلايا الحمراء للنور ولا يظهر التصاقا لأنسجين كلية الخنزير الأفريقي.	لتوضيح التآثر ولأن المعدل الطبيعي مساوي أو أقل من ٨٠ ولأن مصل المريض يحتوي على أجسام مضادة متخصصة تتفاعل مع الخلايا الحمراء للنور.

الفصل الرابع

علم التحضير المجهرى

Microtechniques

الكفاية العملية - ٨٢ -

اتخاذ اجراءات السلامة في مختبر الانسجة .

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على القيام باجراءات السلامة في مختبر الانسجة لتوفير بيئة عمل آمنة .

المبدأ:

يعتمد على المعرفة السابقة للحوادث المتوقعة حدوثها وإجراءات الوقاية منها .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- قفازات واقية .
- صابون وماء
- اقنعة واقية .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	استعمل القفازات الواقية عند التعامل مع العينات	لحماية الايدي من التلوث والمحاليل
٢.	ضع قناع على الوجه عند التعامل مع العينات والمحاليل والاصباغ والاحماض	لحماية الجهاز التنفسي من ابخرة المحاليل.
٣.	استلم العينات في غرفة خاصة جيدة التهوية وبطاولات ناعمة ملساء	لتسهيل تنظيفها وتعقيمها.
٤.	عالج عينات الخلايا النشورية وعينات القطع الجليدي في حجرة خاصة متصلة بنظام تهوية جيد ونظام تعقيم .	لتجنب انتشار الأبخرة في الغرفة .
٥.	تجنب اشعال النار في المختبر عند تعاملك مع محاليل معالجة الانسجة سريعة الاشتعال .	لتجنب نشوب حريق
٦.	احرص على توفر مطفئة حريق فعالة وتدريب على استعمالها .	لاستعمالها في الطوارئ
٧.	تجنب تعريض يديك لمكين المبشرة.	لتجنب حدوث جروح.
٨.	احرص على التعامل مع المواد والمحاليل المعرطنة داخل خزانة السلامة fume hood جيدة التهوية والتعقيم .	لتجنب الاصابة بالاورام السرطانية
٩.	اغسل يديك بالماء والصابون عند انتهائك من العمل.	لاستعمالها بعد ذلك بشكل طبيعي

الكفاية العملية - ٨٣ -

استقبال العينة النسيجية ووسمها وتسجيلها حسب الاصول

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على اتمام اجراءات استقبال العينة النسيجية ووسمها وتسجيلها حسب الاصول لمنع حدوث أي خطأ بين النتيجة والمريض.

المبدأ:

يعتمد على معرفة سابقة لكيفية وسم العينة وتسجيلها في الدفاتر الخاصة بذلك بحيث تعتمد بعض المختبرات في ذلك على إعطاء رقم متسلسل للمريض ثم يليه تاريخ اليوم ثم الشهر ثم السنة .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- قلم حبر
- دفتر سجلات خاص بذلك
- محفظات (كيسولات بلاستيكية)
- قلم رصاص

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	استلام العينة في الوعاء المناسب المثبت عليه ملصق مكتوب عليه اسم المريض وعمره وجنسه ومصدر العينة واسم الطبيب وقسمه مع نموذج طبي موضحا عليه ما سبق من معلومات ومضاقا اليه السيرة المرضية والتشخيص السريري.	عدم حدوث خلط في العينات والنتائج من حيث اصدار نتائج لغير اصحابها وللتأكد من تطابق المعلومات على ورقة التحويل ووعاء العينة .
٢.	سجل العينة في سجل عام لتعطي كل عينة رقما متسلسلا واسم المريض وتاريخ استلام العينة وعمر المريض وجنسه ومصدر العينة واسم الطبيب المرسل وقسمه والتشخيص المجهرى (بعد الفحص) وتاريخ ارسال النتيجة الى الطبيب المعالج.	للرجوع اليه حين الضرورة.

الكفاية العملية - ٨٤ -

مساعدة الطبيب في اخذ الصفات الظاهرية للعينة النسيجية

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على مساعدة الطبيب الاخصائي في علم الامراض على اخذ الصفات العيانية (الظاهرية) للعينة النسيجية وتمجيلها.

المبدأ:

يعتمد على قدرة الفني على فهم المصطلحات الخاصة بالصفات الظاهرية للعينة وقدرته على كتابتها وبسرعة .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- قلم حبر وقلم رصاص
- ورقة الانموذج المرفق مع العينة.
- ميزان ومسطرة
- مشارط وملقط
- قفازات واقعة وجهية.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	المس انت والطبيب القفازات والقناع.	لاتقاء ضرر المحاليل وابخريتها.
٢.	اكتب ما يمليه عليك الطبيب الاختصاصي في علم الامراض من صفات ظاهرية للعينة من حيث ابعاد العينة (حجمها) ولونها ووزنها ووجود تقرحات او تورمات او أي شيء غير طبيعي يمكن ملاحظته على ورقة الانموذج المرفق.	اخذ الصفات الظاهرية للعينة.
٣.	سجل عدد القطع النسيجية التي اخذها الطبيب على الانموذج .	للتأكد من توافق عدد الشرائح المحضرة مع عدد القطع للنسيجية.
٤.	سجل رقم المريض على المحفظة (الكابسولة التي ستحتوي القطع النسيجية).	لتجنب الوقوع في أي خطأ
٥.	ضع الكابسولات الحاوية للعينات في سلة خاصة بذلك .	تمهيدا للبدء في معالجتها.

الكفاية العملية - ٨٥ -

ازالة الكلس من العينة النسيجية

الهدف :

١. ان يكون الطالب قادرا على اجراء خطوات ازالة الكلس من العينة النسيجية .
٢. ان يكون الطالب قادرا على اجراء خطوات التحقق من انتهاء عملية ازالة الكلس من العينة النسيجية المتكلمة كيميائيا .

المبدأ :

يعتمد على سحب ايونات الكالسيوم بفعل الحامض من العينة وطرحها في محلول الإزالة ثم فحص هذا المحلول للتأكد من خلوه من أيونات الكالسيوم .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- محلول نزع الكلس (حامض مثل عينة
- حامض النيتريك بتركيز ٥% او
- مصدر تسخين وحركة دائمة .
- حامض الفورميك) .
- خيط
- ماصات .
- انابيب اختبار
- محلول لمونيا مركز
- محلول اوكسلات الامونيوم
- المائية .

المرات	الخطوات	الرقم
حتى تحاط العينة بالمحلول من جميع الجهات .	علق العينة بحيث تكون مغمورة في الثلث الاعلى من محلول نزع الكلس (حجم المحلول ٤-٢٠ ضعف) من حجم العينة .	١.
لزيادة كفاءة وسرعة النزع .	حرك العينة في المحلول وارفع درجة حرارة المحلول لتسريع العملية .	٢.
هذا المحلول هو مصدر التجربة .	ضع في انبوب اختبار فارغ ٥ ملل من المحلول المغمورة فيه العينة .	٣.
للتحقق من PH المحلول .	ضع ورقة عباد الشمس في المحلول سيتحول لونها الى الاحمر نتيجة حامضية المحلول .	٤.
للمعايرة حتى يتحول المحلول الحامضي الى القاعدي .	اضف قطرات من الامونيا المركزة حتى يتحول لون ورقة عباد الشمس الى الازرق .	٥.

٦.	إذا تكرر المحلول أعد العينة إلى محلول نزع جديد .	دلالة على وجود أيونات الكالسيوم.
٧.	إذا بقي المحلول صافيا بعد إضافة الامونيا نضيف محلول اوكسالات الامونيوم المائية ولمدة ٣٠ دقيقة، فإذا حدث تكرر يعني عدم انتهاء العملية لذلك.	التفاعل مع الكالسيوم وتكوين عكورة .
٨.	أعد العينة إلى محلول للنزع، إما إذا بقي المحلول صافيا فمعنى ذلك انتهاء عملية نزع الكلس .	لاتمام عملية النزع.

الكفاية العملية - ٨٦ -

معالجة العينة النسيجية يدويا

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على القيام باجراءات معالجة الانسجة يدويا وتشمل:

المبدأ:

يعتمد على معرفة الخطوات والمحاليل المستخدمة والزمن اللازم لكل خطوة .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- فورمالين ملحي او ملطف ١٠%
- محاليل كحول ايثلي بتركيز ٧٠% و ٩٠% و ١٠٠% (مطلق).
- محلول زاييلين.
- محلول الشمع الذائب (برايفين)

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	ثبت العينة باستخدام محلول الفورمالين الملحي او الملطف ولمدة ٢٤ ساعة ثم اغسلها بالماء الجاري.	لمنع حدوث تشوهات او تعفنات او اية تغيرات نسيجية، والغسيل للتخلص من آثار الفورمالين.
٢.	ضع النسيج في كحول ٧٠% ثم ٩٠% ثم مطلق ١ ثم مطلق ٢ ولمدة ساعة الى ساعتين.	لتحقيق التجفيف (التخلص من الماء)
٣.	اغمر العينة في محلول الزاييلين لمدة ١٥-٣٠ دقيقة.	للتنقية او التزويق

الكفافية العملية - ٨٧ -

اشباع (تشريب) العينات النسيجية بشمع البرافين والصب (للطمر او

الادماج) في القوالب المعدنية

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على القيام بعملية اشباع العينات النسيجية بشمع البرافين والصب (الطمر او الادماج) في القوالب المعدنية لتحضير المكعبات النسيجية .

المبدأ:

بما أن الشمع قابل للذوبان في الزايلين فإن الشمع سيحل محل الزايلين ليملا الفراغات النسيجية ومن ثم إعطاء النسيج الصلابة اللازمة بالتبريد لتسهيل عملية التقطيع.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- ملقط
- شمع برفين
- قوالب معدنية
- صفحة باردة أو ثلاجة
- كلز زجاجي
- قزازلين
- صحيفة ساخنة
- غلاف بلاستيكي مقب .

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	النقط القطعة النسيجية المعالجة بوساطة ملقط وضعها في وعاء يحوي شمع برفين منصهر (درجة حرارته ٥٥-٦٠ م).	تمهيدا للشروع بعملية التشريب
٢.	ضع الوعاء بما فيه من قطع نسيجية في فرن درجة حرارته ٥٥ - ٦٠ م ولمدة ساعة ونصف الى ساعتين او الى ٣ ساعات ويعتمد ذلك على سمك العينة (تناسب طردي مع السمك).	لاشغال شمع البرافين الفراغات النسيجية بدلا من الزايلين .
٣.	ادهن القالب من الداخل بالفازلين .	ليسهل نزع المكعب الشمعي من القالب المعدني .
٤.	ضع القالب المعدني على صحيفة ساخنة واضف اليه قليلا من الشمع المنصهر ثم ضع القطعة النسيجية في وسط قاع القالب وبشكل منتظم .	حتى لا يتجمد الشمع بسرعة ويحدث فاصل بين الطبقة الاولى والثانية .

٥.	ضع الغلاف البلاستيكي المنقوب في مكانه على القالب المعدني .	حتى يصبح جزء من المكعب الشمعي لتسهيل تثبيته على المباشرة
٦.	صب فوق القطعة النسيجية مزيداً من الشمع المنصهر من خلال الغلاف البلاستيكي المنقوب .	يملأ القالب بالشمع ليمهل وضعه في جهاز المباشرة .
٧.	إذا لم يتوفر الغلاف البلاستيكي فيمكن الصب مباشرة فوق القطعة النسيجية حتى يمتلئ القالب .	بدل لوجود الغلاف البلاستيكي
٨.	ضع القالب بما فيه على صفيحة باردة ليتجمد .	حتى يسهل نزعها من القالب .
٩.	اقلب القالب على وجهه على سطح الطاولة بقوة .	انزع المكعب الشمعي من القالب المعدني .

الكفاية العملية - ٨٨ -

تقطيع المكعبات النسيجية للحصول على المقاطع النسيجية

الهدف :

- ١- ان يكون الطالب قادرا على استخدام جهاز المباشرة والتعامل معه .
- ٢- ان يكون الطالب قادرا على القيام بعملية التقطيع وانتاج مقاطع جيدة.

المبدأ :

يعتمد على مدى مهارة الفني في التعامل مع أجزاء المباشرة بشكل يسر وسريع وعلى معرفته بمواصفات المقاطع الجيدة الخالية من أي عيوب مثل الالتفاف والتشقق وغيرها.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- مكعبات نسيجية
- مبشرة (Microtome) من النوع الدوراني Rotatory .
- ثلج
- شاش

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	ثبت المكعب النسيجي في مكانه في جهاز التقطيع بشكل جيد.	تمهيدا للبدء في عملية التقطيع.
٢.	امسح نظام دفع القالب الى الوراء بواسطة ذراعها الخاص بذلك.	حتى تكون لدينا الفرصة الكافية لاجراء التقطيع لأكبر عدد ممكن.
٣.	ثبت السكين النظيفة في مكانها بشكل جيد وبزاوية خلوص مناسبة.	للحصول على مقاطع جيدة.
٤.	حدد سمك القطاع المطلوب وعادة ما يكون ٥ مايكرون.	هناك اختلاف بين العينات في سمك القطاع المطلوب.
٥.	قرب السكين باتجاه المكعب النسيجي.	حتى نبدأ في عملية التقطيع
٦.	ابدء بالتقطيع بواسطة دوران عجل الجهاز.	
٧.	برد المكعب النسيجي بواسطة قطعة الشاش الموجودة في وعاء الثلج كلما التفت المقاطع النسيجية المقطوعة.	للتغلب على حدوث الالتفافات
٨.	خذ المقاطع الممتلئة للعينة كاملة.	تمهيدا للتحميل على الشريحة الزجاجية .

الكفاية العملية - ٨٩ -

تحميل المقاطع النسيجية

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على القيام بتحميل المقاطع النسيجية على الشريحة تمهيدا لصبغها .

المبدأ :

يعتمد على قدرة الفني على نقل المقاطع إلى محلول الكحول المخفف ثم إلى الحمام المائي ووضعها على الشرائح دون حدوث تمزق لها .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- اعداد خشبية
- محلول كحول ايثيلي ٣٠%
- حمام مائي بدرجة ٤٠-٤٢م

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	خذ المقاطع النسيجية المقطعة بوساطة عود خشبي إلى وعاء يحوي ٣٠% كحول ايثيلي.	لكي تتفرد الانكماشات
٢.	انقل المقاطع النسيجية بوساطة شريحة عريضة من ٣٠% كحول إلى حمام مائي بدرجة ٤٠-٤٢م.	للتأكد من زوال الانكماشات
٣.	اوسم الشريحة برقم او اسم المريض	لتجنب أي التباسات وموء توزيع النتائج .
٤.	انشر مادة لاصقة على سطح الشريحة مثل (زالا البيض مع الجلسرين) .	لتجنب انزلاق القطاعات من على الشريحة.
٥.	ادخل الشريحة الموضومة الى داخل الماء في الحمام المائي بشكل عمودي على حافة القطاع النسيجي بحيث تجعل حافة القطاع النسيجي على طرف الشريحة العلوي ثم امسح الشريحة الى اعلى .	لرفع القطاعات من الماء الى الشريحة.
٦.	صف الشريحة من الماء وانقلها الى الفون.	للتخلص من بقايا الماء.

الكفاية العملية - ٩٠ -

صبغ المقاطع النسيجية بصبغة هيماتوكسلين -أيوسين .

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على القيام بخطوات صبغ المقاطع النسيجية على الشرائح الزجاجية.

المبدأ :

يعتمد على العوامل الفيزيائية والكيميائية في الصبغ حيث تظهر الخلية ملونة بشكل واضح .

الأجهزة والاموات والمواد اللازمة :

- محلول زايلين.
- كحول مطلق ٩٥% ، ٧٠% ، ٥٠% .
- كحول حامضي ومطول الامونيا
- صبغة الايوسين
- صبغة الهيماتوكسلين

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	اخرج الشريحة من الفرن واغمرها في محلول الزايلين لمدة ٢-٣ دقائق.	للتخلص من الشمع
٢.	انقل الشريحة الى كحول مطلق ١ ثم كحول مطلق ٢ ثم كحول ٩٥% ثم ٧٠% ثم ٥٠% ولمدة ٣٠ ثانية الى دقيقة لكل خطوة.	لتحقيق التمييز .
٣.	اغسل الشريحة بالماء المقطر بشكل جيد.	لازالة اثار الكحول واتمام التمييز.
٤.	اغمر الشريحة في صبغة هيماتوكسلين هاريس ولمدة ٨-١٥ دقيقة ثم اغسل بالماء الجاري.	لاكساب الانوية اللون الازرق.
٥.	اغمر الشريحة في محلول كحول حامضي.	لتمييزها بازالة الصبغة الزائدة ويحكم على ذلك من خلال مشاهدة الشريحة مجهريا.
٦.	اغسل الشريحة بالماء الجاري ثم اغمرها في محلول الامونيا ولمدة ٣٠-٩٠ ثانية.	لازالة اثار الكحول الحامضي وتوفير الوسط القاعدي .
٧.	اغسل الشريحة جيدا ثم ضعها في	لاكساب الميتوبلازم اللون

	صبغة الايوسين ولمدة ٣٠ ثانية الى ٣ دقائق.	الوردي.
٨.	ضع الشريحة في محلول كحول ٩٥% مرتين ولمدة ١-٢ دقيقة .	وذلك للتخلص من صبغة الايوسين الزائدة والماء. للتخلص من الماء.
٩.	ضع الشريحة في كحول مطلق ١ ثم مطلق ٢ ولمدة ١-٢ دقيقة.	
١٠.	ضع الشريحة في محلول الزايلين مرتين لمدة ٥ دقائق في كل مرة.	للتشغيف وتمهيدا لإضافة وسط التغطية الذي يذوب في الزايلين.
١١.	غط الشريحة بالغطاء والوسط المناسبين.	لحفظ من التغيرات.

الكفاية العملية - ٩١ -

تغطية (Mounting) المقاطع النسيجية

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على القيام بخطوات تغطية القطاعات النسيجية لحفظ المقاطع لاطول مدة زمنية .

المبدأ :

استخدام اوساط تغطية تذوب في محلول التتفة المستخدم ويتميز الوسط بمواصفات ايجابية جيدة .

الأجهزة والالات والمواد اللازمة :

- وسائط التغطية مثل DPX ، كندا بلسم Canada Balsam .
- اغطية شرائح كبيرة الحجم .
- اعداد خشبية .
- محلول زايلين .

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	ضع قطرة الى ٣ قطرات من وسط التغطية على غطاء الشريحة .	الوسط المناسب لتحقيق هدف التغطية .
٢.	اقلب الشريحة المحتوية على القطاع النسيجي على وسط التغطية .	لاحدث الالتصاق
٣.	اعد وضع الشريحة الى الوضع الاول الاعتيادي .	لاعادة الترتيب
٤.	اغمر اطراف الشريحة بالزايلين .	للتخلص من بقايا وسط التغطية .
٥.	بوساطة عود خشبي رتب وضع غطاء الشريحة فوق القطاعات لكي لا تكون مائلة او غير ذلك .	لاحدث تناسق بين وضع غطاء الشريحة والشريحة .
٦.	امح لها بالجفاف .	لكي يثبت غطاء الشريحة فوق القطاع .

الكفاية العملية - ٩٢ -

حفظ وخزن الشرائح النسيجية بعد فحصها

الهدف:

أن يكون الطالب قادراً على القيام بحفظ وخزن الشرائح النسيجية ومن ثم استخراج أية شريحة بيسر وسهولة.

المبدأ:

يعتمد على طريقة التسمية والتصنيف الذي يسهل الوصول إلى أية شريحة في أي وقت.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- صينية خاصة بالشرائح.
- خزائن التخزين.
- كحول ٩٥%.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	نظف الشريحة بمحلول كحول ٩٥% بوساطة قطعة شاش ولا تستخدم محلول الزايلين لذلك.	لان الزايلين يقلل من تماسك غطاء الشريحة مع الشريحة.
٢.	تأكد من أن الشريحة موسومة باسم المريض أو رقمه وتاريخ تحضير الشريحة وطبيعة النسيج والمصبغة المستعملة.	للاستفادة من هذه المعلومات حين الرجوع للشرائح لإعادة قراءتها.
٣.	ضع الشريحة في صينية خاصة مسواة بشكل أفقي أو عمودي بعد التأكد من جفافها.	لتناول الصينية كاملة لغايات الاستخراج ثم اخذ الشريحة المطلوبة من الصينية.
٤.	أوسم الخزائن من الخارج بأرقام الشرائح الموجودة في الداخل وتاريخ تحضيرها مستخدماً الأشهر والسنين كان نقول شهر ٩٩/١ ، ٩٩/٢ وهكذا.	لتسهيل الوصول إلى الشريحة المطلوبة بدلاً من البحث في جميع الشرائح وهذا من مبادئ الترقيم والتصنيف.

الفصل الخامس

علم الدم

Hematology

الكفاية العملية - ٩٣ -

تحضير عينات الدم

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على تحضير عينات الدم الكامل والبلازما والمصل .

المبدأ :

تجمع عينة الدم الكامل بمزج الدم المسحوب عن طريق الوريد في حاوية تحتوي على مانع تجلط وتمزج جيدا كما يتم تحضير البلازما بتعريض عينات الدم الكامل للطرد المركزي لترسيب الخلايا الدموية والحصول على البلازما طافية فوقها في حين تحضر عينة المصل بالمصاح لعينة الدم الموجودة في أنبوب طرد مركزي خال من موانع التجلط بالتجلط وضمور الجلطة. يستخدم الطرد المركزي لفصل المصل عن الجلطة الدموية والخلايا الحمراء الحرة.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- أنابيب طرد مركزي .
- مانع تجلط .
- حاضنة .
- جهاز طرد مركزي .
- أعواد خشبية أو قضيب وجاجي .

أ. تحضير عينات الدم الكامل (Whole Blood) والبلازما.

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	ضع عينة الدم في أنبوب طرد مركزي يحتوي على مانع تجلط مناسب (Sodium Citrate) وامزجها جيدا.	للحصول على عينة دم كاملة وللتعامل معها كعينة مخبرية.
٢.	عرض عينة الدم الكامل للطرد المركزي بسرعة مناسبة (٣٠٠٠ د/د) أو اتركها بدرجة ٢٠م لعدة ساعات.	لفصل الدم الى مكوناته من البلازما (الطافي) والخلايا الحمراء (الراسب) للتعامل معها كعينة مخبرية.
٣.	انقل البلازما الى حاوية مناسبة بواسطة قطارة أو ماصة أو توماتيكية.	للتعامل معها لعينة مخبرية.

ب. تحضير عينات المصل بالطريقة التقليدية:

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	ضع عينة الدم بعد سحبها مباشرة في أنبوب طرد مركزي خالي من أي مانع تجلط.	للسماح بانطلاق عملية التجلط بمجرد ملاصقتها لأي سطح خارجي.
٢.	ضع أنبوب الطرد المركزي الذي يحتوي على عينة الدم في حاوية بدرجة ٣٧ لمدة ٣٠ دقيقة وحتى إكمال تجلط الدم وضمور الجلطة.	للسماح بخروج المصل من الجلطة.
٣.	عرض أنبوبة الطرد المركزي بعد فصل حافة الجلطة من جدار الأنبوبة بسرعة ٣٠٠٠ د/د لمدة ٢ دقائق.	لفصل الجلطة الدموية كراسب في أسفل الأنبوب عن المصل الطافي (في أعلى الأنبوب).
٤.	أنقل المصل إلى حاوية مناسبة بواسطة قطارة أو ماصة أوتوماتيكية.	للتعامل معها كمينة مخبرية.

ج. تحضير عينة المصل عن طريق البلازما.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	عرض عينة الدم بعد سحبها مباشرة للطرد المركزي بسرعة ٣٠٠٠ د/د لمدة ٣ دقائق في أنبوب طرد مركزي خالي من أي مانع للتجلط.	لفصل الخلايا الدموية عن البلازما.
٢.	ضع العينة في حاضنة بدرجة ٣٧ م لمدة ٣ - ٥ دقائق.	للسماح بإكمال تجلط البلازما الطافية دون الخلايا الحمراء.
٣.	أضغط شبكة الفيرين الموجودة في البلازما تدريجياً من السطح إلى أسفل باتجاه الخلايا الحمراء بواسطة قضيب زجاجي.	لطرد المصل من شبكة خيط الفيرين.
٤.	عرض العينة مرة أخرى للطرد المركزي بسرعة ٣٠٠٠ د/د لمدة ٢ دقائق.	لتجميع خيوط الفيرين على شكل طبقة مكنسة بين الخلايا الحمراء والمصل الطافي.
٥.	أنقل المصل (الطافي) إلى حاوية مناسبة بقطارة أو ماصة أوتوماتيكية.	للتعامل معها كمينة مخبرية.

الكفافية العملية - ٩٤ -

استقبال العينات

الهدف :

أن يكون الطالب قادراً على التعامل مع المراجعين ببشاشة وسعة صدر ومصداقية أثناء استلام العينات وتسليم النتائج وأن يكون قادراً على توزيع العينات على أقسام المختبر المختلفة بعد التأكد من صلاحيتها للفحص المطلوب وأن يوثق عمله في سجلات الاستقبال.

المبدأ :

إن البشاشة وسعة الصدر والمصداقية والنظام من الصفات الأساسية التي تساعد فني المختبر المسؤول عن استلام العينات على كسب ثقة المراجعين وودهم وبالتالي تعزيز اقبالهم على التعامل معه .

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- غرفة الاستقبال وجمع العينات مزودة بكافة وسائل الراحة والطمأنينة وان تكون جيدة الإنارة والتهوية
- سجلات استلام العينات وتسليم النتائج .
- أوراق مراجعة .
- قرطاسية مختلفة .
- أدوات نقل العينات .
- تعليمات مطبوعة تخص بعض التجارب
- المخبرية .
- ملصقات تخص العينات.

الرقم	الخطوة	المبررات
١.	تجمل بالبشاشة والمصداقية وسعة الصدر عند تعاملك مع المريض .	لكسب ثقة المراجعين تعزيز اقبالهم على المختبر .
٢.	تأكد من وضوح الفحص المطلوب بشكل محدد وعدم اعتماد أسماء تجارب غير محددة مثل (CBC) أو وظائف الكبد ... الخ .	لتجنب القيام بالأجراءات الخاطئة .
٣.	أعط المراجع الحاوية المناسبة وزوده بالمعلومات اللازمة لجمع العينة وحفظها شفهياً أو خطياً.	لضمان الحصول على عينة مستوفية لمتطلبات الفحص .
٤.	لق نظرة سريعة على العينة قبل استلامها .	للتأكد من صلاحيتها وملامتها للفحص المطلوب.

٥.	اكتب الرقم المخبري المتسلسل على العينة ونموذج طلب الفحص وعلى ورقة المراجعة .	لضمان حصول المريض على نتيجة الفحص المطلوب لعينته وعدم حصوله على نتيجة أخرى .
٦.	اكتب اسم المريض وجنسه وعمره وطببيه واسم الفحص المطلوب وتاريخ استلام العينة وتسليم النتيجة في سجل استقبال العينات أمام رقمه المخبري .	لتوثيق المعلومات كي يتسنى الرجوع إليها عند الحاجة .
٧.	اكتب الرقم المخبري وتاريخ استلام العينة وتسليم النتيجة في ورقة المراجعة	لتسهيل عملية المراجعة واستخراج النتيجة .

الكفاية العملية - ٩٥ -

جمع الدم من الاوعية الشعرية بثقب الجلد

Capillary blood collection by skin puncture

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على جمع عدة نقط من دم المريض باحداث جرح قياسي في سطح الجلد.

المبدأ :

يعد جمع الدم إلى فني متمرس يتميز بالشاشة وسعة الصدر في حجرة جيدة الاتارة والتهوية ومزودة بكل وسائل الراحة النفسية والبدنية وبجميع لوازم سحب الدم واجراءات التعقيم المناسبة .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- طلب الفحص .
- ادوات مدببة وحادة ومعقمة بابعاد قياسية ثابتة Lancets
- قطع قطن او قماش مبللة بـ ٧٠% كحول.
- قطن مبلل بمحلول الأمونيا (للطوارئ) .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	تأكد من هوية المريض واطلب منه الجلوس أو الاستلقاء في وضع مريح .	لمنع استبدال المريض بمريض آخر ولتهيئته نفسيا وبدنيا .
٢.	تفحص سطح الجلد في مواقع الثقب المحتملة (اطراف الاصابع او حلمة الاذن عند البالغين او كعب القدم عند الرضع).	لاختيار الموقع المناسب الذي يتميز برقة الجلد وعدم امكانية تعرض الثقب للتلوث والأقل إيلاسا .
٣.	ادعك الموقع وذلك بقطعة قماش مبللة (غير مشبعة) بـ ٧٠% كحول .	لتعقيم الموقع وتنشيط الدورة الدموية في الموقع .
٤.	اضغط على الموقع باصابعك وانتقب الجلد بدون تردد بواسطة المنقب (Lancet).	تشد سطح الجلد وتسهيل احداث الثقب الوريدي والحصول على جرح قياسي يتميز بتجميع قطرة دم قطرها ١-٢ ملم فوق الثقب.

٥.	تجنب عصر الموقع وتخلص من اول قطرة دم في جميع الحالات بإستثناء قياس زمن النزف.	لمنع تلوث العينة بعصير الانسجة.
٦.	أجمع نقط الدم التي تخرج من ثقب الجلد بشكل حر بالطريقة المناسبة.	لاستخدامها كعينات مخبرية.
٧.	اضغط بلطف قطعة قطن مبللة بالكحول فوق ثقب الجلد لمدة دقائق .	لوقف النزف من الثقب ومنع تلوث الجرح والتهابه.
٨.	تخلص من المثقب والقطن المستخدم في الحاوية المناسبة وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.	استعدادا لإعادة أحداث الثقب عند الحاجة والمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

جمع عينات الدم من الاوردة

Intravenous Blood Collection

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على احداث اختراق وريدي للحصول على عينات مخبرية من المريض أو جمع الدم من المتبرعين.

المبدأ :

يعهد بسحب الدم إلى فني متمرس يتميز بالشائنة وسعة الصدر في حجرة جيدة الاثارة والتهوية ومزودة بكل وسائل الراحة النفسية والبدنية وجميع لوازم عملية سحب الدم واجراءات التعقيم المناسبة .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- حقن بلاستيكية مع الابر المناسبة او اوعية مفرغة مع ابرها او اجهزة جمع الدم من المتبرعين.
- حزام ضاغط Turniquate
- قطع شاش او قطن مبلى بالكحول ٧٠%
- اوعية مناسبة لحفظ العينات المخبرية
- اشرطة طبية لاصقة.
- قطن مبلى بمحلول الأمونيا (الطواري).

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	تأكد من هوية المريض او المتبرع والتزامه بالتعليمات المناسبة لعملية سحب الدم واطلب منه الجلوس او الاستلقاء في وضع مريح.	كي تكون العينة المجموعة مناسبة للفحص المطلوب و يكون المتبرع لائقا للتبرع في الدم ومهيئا نفسيا لذلك. وتجنب استبداله بمريض آخر.
٢.	تأكد من تحضير كل ما يلزم من ظروف وادوات و مواد لجمع الدم (تحضير الحاويات المناسبة، تثبيت الابر بمقدمة الحقن او تثبيت الابرة في قابض الوعاء المفرغ وادخال الوعاء داخل المقبض، القطن او القماش المبلى بالكحول).	لمنع تلف عينة الدم بسبب عدم ملائمتها للفحص في حالة التأخير في معالجتها بالطريقة المناسبة وفي الوقت المناسب، ولمنع تعرض المتبرع او المريض للمضاعفات.

٣.	تفحص طبيعة الاوردة المرفقية.	لاختيار الوريد المناسب لمسحب الدم.
٤.	اربط السذراع المرتكز على معتمد المقعد او جانب السرير فوق المرفق بواسطة الحزام الضاغط بطريقة يسهل فيها ازالتها.	لابراز وتثبيت الاوردة الدموية للموقع جمع للدم منها.
٥.	اطلب من المريض او المتبرع ثني السذراع ومده وقبض الكف وبمضه عدة مرات.	لتنشيط الدورة الدموية وابراز الاوردة في الموقع.
٦.	نظف الجلد في موقع الاوردة بقطنة او قطعة قماش مبللة بالكحول او بمحلول اليود عند الحاجة لزرعة الدم جراثيميا.	لوقاية الثقب الوريدي من التلوث الجرثومي والالتهاب.
٧.	تأكد من خلو الحقنة من الهواء بضغط المكبس الى آخر مداه وتأكد من تثبيت الابرة في مقدمة الحقنة او قابض الوعاء المفرغ.	لتجنب دخول الهواء الى الدورة الدموية وتجنب انفصال الابرة عن الحقنة عند سحبها من الوريد بعد اكتمال جمع الدم.
٨.	انزع غطاء الابرة واتقب الوريد بالابرة بشكل موازي لاتجاه الوريد وبزاوية ٣٠-٤٥° مع سطح الجلد وبدون تردد بحيث يكون حشد الابرة المدبب ملاصقا للجلد.	للتأكد من دخول الابرة باتجاه مواز لتيارات الدم وعدم اختراق الوريد بشكل قطري.
٩.	راقب ظهور الدم في مقدمة الحقنة بعد احداث الثقب الوريدي.	لأن ظهور الدم في مقدمة الحقنة او عند قاعدة الابرة يدل على ان الابرة في موقعها الصحيح داخل الوريد.
١٠.	أ- اسحب مكبس الابرة الى الخلف او ب- اضغط الوعاء المفرغ الى داخل المقبض حتى تخسرق الرأس القصير للابرة داخل المقبض غطاء الوعاء. ج- او ثبت الابرة في موقعها فوق سطح الجلد بشريط طبي لاصق عند جمع الدم من	- لاجداث الفراغ المناسب لكمية الدم المطلوب جمعها . - لتوصيل الفراغ الخاص بالوعية المفرغة بالدورة الدموية عن طريق الابرة. - لتسهيل تدفق الدم الى الحقنة خلال فترة جمع الدم التي قد تزيد عن عشرة دقائق.

	المتبرعين وانزع الحزام الضاغط.	
١١.	إسحب الأبرة من الوريد واضغط بشكل لطيف موقع الثقب بقطعة قماش أو قطن مبللة بالكحول وثبتها بشريط طبي لاصق بعد جمع كمية الدم اللازمة في الفراغ. وقم بإزالة الحزام الضاغط .	لمنع النزف من الثقب الوريدي.
١٢.	انزع الأبرة المثبتة بالحقنة وانقل الدم إلى الحاوية المناسبة وثبت عليها الرقم المخبري . أو ضع حقبة جمع الدم من المتبرع على هزاز كهربائي لخلط الدم المجموع مع ملئع التجلط خلال تدفق الدم واسحب الأبرة من الوريد بعد امتلاء حقبة الدم واضغط بشكل لطيف موقع الثقب بقطعة قماش أو قطن مبللة بالكحول وثبتها بشريط طبي لاصق .	لتجنب تحلل الخلايا الدموية وتمييز العينة عن بقية العينات. لمزج الدم بموانع التجلط والحفاظة للدم الموجودة في حقبة الدم ولمنع النزف من الثقب الوريدي.
١٣.	تخلص من الحقن والأبر المستخدمة في جمع الدم ونظف الموقع.	تمهيدا لجمع عينات دم أخرى عند الحاجة وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية - ٩٧ -

تعداد الخلايا الدموية الحمراء والبيضاء والصفائح مجهرياً

Microscopic count of blood cells (RBCs, WBCs, & platlets)

الهدف :

ان يكون الطالب قادراً على تعداد أي من الخلايا الدموية (الحمراء او البيضاء او الصفائح) باستخدام المجهر وشرائح تعداد الخلايا الزجاجية.

المبدأ :

يتم القيام بتعداد أي من الخلايا الدموية الحمراء والبيضاء والصفائح الدموية بعد بعثرتها عن طريق تخفيف عينة الدم بمحلول التخفيف المناسب بالنسبة المناسبة باستخدام ماصات توما. تستخدم شرائح تعداد الخلايا لتعداد الخلايا في حجم ثابت من العينة المخففة. يستخدم المحلول الملحي (NS) في تخفيف عينة الدم بنسبة ١ : ٢٠٠ عند الحاجة لتعداد الخلايا الحمراء ومحلول ٣% حامض اسيتك مضافاً إليه صبغة رايت لتخفيف عينة الدم بنسبة ١ : ٢٠ عند الحاجة لتعداد الخلايا البيضاء ومحلول ١% اوكسالات الأمونيوم لتخفيف عينة الدم بنسبة ١ : ٢٠٠ أو ٢٠٠ : ١ عند الحاجة لتعداد الصفائح الدموية.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- محاليل التخفيف المناسبة وتشمل محلول ٣% من حامض الخليك الأزرق للخلايا البيضاء، والمحلول الملحي N.S للخلايا الحمراء و ١% اكسالات الامونيوم للصفائح.
- قطع شاش أو قطن مبالة بـ ٧٠% كحول.
- ماصات توما لتخفيف عينات الدم نظيفة وجافة موصولة بانابيبها المطاطية.
- شريحة تعداد الخلايا المحسنة من نوع نوبر مع اغطيتها نظيفة وجافة.
- مجاهر مزودة بالعدسات الشيئية ١٠ (L.P) و ٤٠ (HP).
- حجرة رطبة عند اللزوم (طبق بترى بداخله ورقة ترشيح مبالة بالماء).

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	امزج عينة الدم جيدا قبل الشروع في تخفيفها اذا كانت مجموعة على مانع تجلط.	لتوزيع الخلايا بشكل متجانس في العينة.
٢.	املا القناة الشعرية لماصة توما الخاصة بتعداد الخلايا الحمراء او البيضاء حتى العلامة ٠,٥ من عينة الدم او من جرح قياسي بعد ان تثبت ميمم الانببوب المطاطي بين الاسنان وتجنب وجود فقاعات هوائية في العينة داخل الماصة.	للحصول على حجم قياسي ثابت من العينة.
٣.	نظف السطح الخارجي لمقدمة ماصة توما بمسحة بقطعة قماش مبللة بالماء.	لمنع تلوث محاليل التخفيف بعينات الدم وبالتالي لتجنب خطأ زيادة حجم العينة أثناء التخفيف.
٤.	اغسس مقدمة ماصة توما في محلول التخفيف المناسب بشكل عمودي بحيث يبقى ميمم الانببوب المطاطي مثبت بين الاسنان واملا الماصة حتى العلامة بعد الانتفاخ بحيث يمكن رؤية حركة السوائل داخل الماصة.	للتأكد من صحة ودقة التخفيف ومنع حجز فقاعة هوائية داخل انتفاخ التخفيف.
٥.	ارفع الماصة من محلول التخفيف مباشرة بعد وصوله حتى العلامة بعد الانتفاخ (١١ في ماصات تخفيف الخلايا البيضاء او ١٠١ في ماصات تخفيف الخلايا الحمراء) وثبتها بشكل القوي.	لمنع خروج المحاليل من ماصة توما بعد وصول محلول التخفيف حتى العلامة بعد الانتفاخ ولضمان دقة التخفيف بنسبة ٢٠:١ في ماصات الخلايا البيضاء وبنسبة ٢٠٠:١ في ماصات تخفيف الخلايا الحمراء.
٦.	افصل الانببوب المطاطي عن ماصة توما وامزج عينة الدم مع محلول التخفيف داخل الانتفاخ بمساعدة البلورة الزجاجية البيضاء او	لبعثرة الخلايا وتوزيعها بشكل متجانس بالنسبة للخلايا الدموية بشكل عام والصفائح الدموية بشكل

	الحمراء عن طريق خضها باليد او بخضاض كهربائي لمدة خمسة دقائق في حالة تعداد الخلايا الحمراء والبيضاء ولمدة ١٥ دقيقة في حالة تعداد الصفائح الدموية.	خاص التي تتميز بقدرتها على التكتل والالتصاق.
٧.	تخلص من اول قطرتين تخرج من مقدمة الماصة.	لانها تمثل محلول التخفيف الذي يملأ القناة الشعرية ولا يماهم في نمية التخفيف وشبه خالي من الخلايا.
٨.	ثبت غطاء شريحة تعداد الخلايا فوق المربعات المخططة في سطحها واملأ الفراغ المحجوز بينها بمحلول العينة المخففة الخالي من اية فقاعة هوائية وتجنب تدفق المحلول فوق غطاء الشريحة او في الاخدود المحيطة بالمربعات.	لتحديد حجم ثابت (٠,٤) ملم ^٣ يشار له بـ 5R (4W) او ٠,٠٢ ملم ^٣ يشار له بـ 5R تمهيدا لتعداد الخلايا فيه.
٩.	استعرض الخلايا الحمراء او البيضاء فوق مربعات شريحة نوبر بالعدسة الشبكية ١٠ واستعرض الصفائح الدموية فوق مربعات شريحة نوبر بالعدسة الشبكية ٤٠ بعد فترة زمنية مناسبة.	للتأكد من استقرار الخلايا وتوزيعها بشكل متجانس على سطح المربعات وللتأكد من نظافة الشريحة ومحلول التخفيف المستخدم (تستقر الخلايا الحمراء والبيضاء خلال عدة دقائق وتحتاج الصفائح لما لا يقل عن ١٥ دقيقة لاستقرارها).
١٠.	احفظ شريحة نوبر بعد ملئها في الحجرة الرطبة اذا تاخر تعداد الخلايا عن خمسة دقائق لأي سبب كلن.	لمنع جفاف العينة المخففة ومنع تقلص حجمها وبالتالي تكسد موضعي للخلايا فوق مربعات التعداد .
١١.	قم بتعداد الخلايا الحمراء فوق المربعات المشار لها بـ 5R والخلايا البيضاء وفوق المربعات المشار لها بـ 4W والصفائح الدموية فوق أي منهما حسب ماصة توما المستعملة باستخدام العدسات الشبكية ١٠ للخلايا البيضاء والعدسة ٤٠ للخلايا	لأن عدد الخلايا الحمراء والصفائح كبير بشكل محسوس بالنسبة للخلايا البيضاء التي تحتاج الى حقن مجهرى واسرع (4W) لعددها.

<p>لعدم إمكانية رؤية الصفائح الدموية بشكل واضح بالعمسة الشبكية ٤٠ وانما يستدل على مواقعها ببريقها الكروي او البيضاوي في الحقول المعتمة.</p>	<p>الحمراء والصفائح. استخدم الضوء الخافت للحصول على حقول مجهريّة صغيرة بواسطة العمسة الشبكية ٤٠ عند الحاجة لعدد الصفائح.</p>	<p>١٢.</p>
<p>وذلك لمنع تكرار تعداد الخلايا الموجودة على الخطوط الفاصلة بين المربعات اذ تمد الخلايا على خطوط الزاوية المجاورة لمربع ما مع المربع والخلايا الواقعة على خطوط الزاوية المقابلة مع المربعات المجاورة.</p>	<p>اعتمد مبدأ الزوايا المتقابلة للمربعات عند تعداد الخلايا فيها.</p>	<p>١٣.</p>
<p>لحساب عدد الخلايا الحمراء والبيضاء في كل ملم^٢ واحد من عينة الدم غير المخففة . يصيب عدد الصفائح بناءً على الطريقة المتبعة في تخفيفها او عدّها (حمراء او بيضاء).</p>	<p>اضرب مجموع عدد الخلايا الحمراء فوق المربعات 5R بـ ١٠٠٠٠ ومجموع عدد الخلايا البيضاء فوق المربعات 4W بـ ٥٠.</p>	<p>١٤.</p>
<p>تمهيدا لاعادة تعداد الخلايا في عينات اخرى وللحفاظ على نظافة الموقع وسلامة البيئة .</p>	<p>تخلص من العينة المخففة ونظف وجفف ماصات توما وشرائح نويسر واغطيها والموقع واعد المحاليل الى مواقع حفظها بعد اعتماد النتيجة (يستعان بالكحول للتخلص من الماء من داخل ماصات توما) .</p>	<p>١٥.</p>

الكفاية العملية - ٩٨ -

تحضير ودراسة شريحة دم مصبوعة

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على تحضير شريحة دم مصبوعة تناسب دراسة الخلايا الدموية الحمراء والبيضاء والصفائح من ناحية اشكالها ونسبها.

المبدأ :

يتم دراسة أشكال الخلايا الدموية ونسبها في شرائح الدم المصبوغة بأي من صبغات روماتوسكي للمساعدة في تشخيص أمراض الخلايا الدموية وتجلط الدم ومتابعة علاجها .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- شرائح زجاجية نظيفة وجافة .
- إحدى صبغات روماتوسكي مثل صبغة رايت Wright او ليشمان Leishman او جيمزا Giemza .
- ماء مقطر او محلول منظم .
- مجهر يوفنر العدسات الشيئية ١٠ (L,P) و ٤٠ (HP) والزيتية ١٠٠ .
- كحول الميثانول Methanol عند استخدام صبغة جيمزا .

الرقم	الخطوات	المجرات
١ .	ضع قطرة دم قطرها ٢-٣ ملم على سقالة ١ سم من الحافة القصيرة لشريحة زجاجية افقية.	لاستخدام ما تبقى من سطح الشريحة الافقية لفرض قطرة الدم عليه.
٢ .	ضع الحافة الضيقة لشريحة زجاجية اخرى بلامسة سطح الشريحة الافقية لتكوين زاوية حادة تحتوي قطرة الدم داخلها (٣٠-٤٥) وحركها باتجاه قطرة الدم حتى تلامسها.	لتوزيع الدم على رأس الزاوية الحادة.
٣ .	حرك الشريحة الثانية باتجاه الحافة الضيقة الاخرى للشريحة الافقية بسرعة وزاوية ثابتة وبدون توقف حتى ١ سم قبل الحافة.	لتكوين طبقة دقيقة متجانسة من خلايا الدم تغطي اكثر من نصف سطح الشريحة الافقية. يتناسب سمك الطبقة طرديا مع الزاوية وعكسيا مع السرعة.
٤ .	عرض طبقة الدم المتكونة لتبين هوائى عن طريق تحريكها باليد او	للمساعدة على تجفيفها بشكل سريع وبالتالي

	بإستخدام مروحة مياثسرة بعد تحضيرها.	المساعدة على تسطح الخلايا الدموية وإبراز نواتها.
٥.	أحفر اسم أو رقم المريض بإداة حادة مدببة (حافة شريحة أخرى، رأس لانسيت أو إبرة) في الجزء السميك من طبقة الدم.	لتمييز شريحة الدم عن بقية الشرائح دون الحاجة الى استخدام الاحبار التي قد تتدخل في عملية الصبغ.
٦.	ضع الشريحة في حوض الصبغ بوضع افقي واضع طبقة الدم بالميثانول عند استخدام صبغة جيمزا فقط.	لتنشيط طبقة الدم على سطح الشريحة الزجاجية أثناء عملية صبغها. لا تحتاج صبغات رايت وليشمان لتنشيط طبقة الدم بالميثانول لأنه يعمل كمذيب لهما عند تحضيرها.
٧.	اغمر طبقة الدم فوق سطح الشريحة وهي في وضع افقي لمدة دقيقة الى دقيقتين عند استخدام صبغات ليشمان او رايت ولمدة ٥-٧ دقائق عند استخدام صبغة جيمزا.	لاتاحة الفرصة للخلايا الدموية ومكوناتها لكتساب الصبغة بشكل يمكن التفريق بين الميتوبلازم والنواة بشكل سريع.
٨.	خفف الصبغة على سطح الشريحة بما يزيد قليلا عن حجمها بالماء المقطر او المحلول المنظم وانتظر بعد خلط الماء بالصبغة لمدة دقيقة الى دقيقتين عند استخدام صبغة ليشمان او رايت ولمدة ١٠-١٥ دقيقة عند استخدام صبغة جيمزا.	لاذابة الرواسب من الصبغة وتسهيل غسل الفائض منها من على سطح طبقة الدم بعد استكمال عملية الصبغ.
٩.	اغسل طبقة الدم والشرائح الزجاجية التي تحملها بالماء المقطر او المحلول المنظم واتركها بشكل مائل في الهواء.	للتخلص من الفائض الصبغية المستخدمة والمساعدة على تجفيفها.
١٠.	تأكد من لون وطبيعة طبقة الدم بالعين المجردة.	لاعادة تحضير طبقات الدم غير جيدة التحضير ، تظهر طبقات الدم جيدة التحضير للعين المجردة بنفسجية متجانسة السمك.
١١.	استعرض طبقة الدم المصبوغة بالعمدة الشبكية ١٠.	للتأكد من صلاحية طبقة الدم المصبوغة من ناحية

اكتساح الصبغ وتوزيع الخلايا بشكل متجانس ومتتابع واختيار انسب جزء منها للدراسة .		
للتعرف على انواع الخلايا البيضاء ونسبتها المئوية باستخدام عدادات رقمية خاصة او المربع المنوي ، وعلى خصائص الخلايا الحمراء والصفائح الدموية وامكانية وجود طفيليات دموية.	استخدم العدسة الزيتية (١٠٠) لاستعراض ١٠٠ خلية بيضاء في العدد اللازم من الحقول المجهرية المتتابعة وباتجاهات متعاكسة.	١٢.
لأن العدد التفريقي النسبي للخلايا البيضاء لا يعبّر بشكل مؤكد عن الخلل الحقيقي في مدى توفر انواع الخلايا البيضاء.	استخدم النسبة المئوية لكل نوع من الخلايا البيضاء والعدد الكلي للخلايا البيضاء WBC في حساب عددها المطلق (عدد أي نوع من الخلايا البيضاء في كل ملم ^٣).	١٣.
للتعرف على العدد الكلي الحقيقي للخلايا البيضاء وبالتالي العدد المطلق لكل نوع من انواعها.	استبعد عدد خلايا النورموبلاست التي تصادفها أثناء استعراض ١٠٠ خلية بيضاء من العدد الكلي غير الحقيقي للخلايا البيضاء باستخدام المعادلة التالية: $\text{True WBCs} = \frac{\text{Counted WBCs} \times 100}{100 + \text{No. of Normoblast}}$	١٤.
تمهيدا لاعادة التجربة على عينات دم اخرى وللحفاظ على نظافة المكان وسلامة البيئة.	نظف عدسات المجهر بعد فصل التيار الكهربائي واعد الصيغ والادوات الى اماكن حفظها ونظف مكان العمل وتخلص من الشرائح بعد اعتماد النتيجة او احتفظ بها عند الحاجة .	١٥.

الكفاية العملية - ٩٩ -

قياس تركيز الهيموجلوبين في الدم

(Blood Hemoglobin Concentration)

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على استخدام محلول درايبكين في قياس تركيز الهيموجلوبين في عينات الدم المختلفة.

المبدأ :

يعمل فيريسينايد البوتاسيوم الذي يتفاعل مع سيانيد البوتاسيوم لتكوين سيانوميثيموجلوبين على أكسدة الهيموجلوبين (Fe^{2+}) إلى ميثيموجلوبين (Fe^{3+}) ويتناسب طردي مع تركيز الهيموجلوبين في العينة.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- محلول درايبكين Drabkin solution
- انابيب اختبار نظيفة وجافة.
- جهاز تحليل طيفي يوفر الموجة الضوئية ٥٤٠ ميمك.
- ماصات الهيموجلوبين او ماصات اوتوماتيكية مسعة ٢٠ ميكل.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	امزج عينة الدم المجموعة على مانع تجلط بشكل جيد.	للتأكد من توزيع الخلايا الحمراء بشكل متجانس وعدم ترسيبها بشكل جزئي.
٢.	امزج ٢٠ ميكل (٠.٠٢ ملل) من العينة بـ ٥ ملل محلول درايبكين في انبوب اختبار واتركها بدرجة حرارة الغرفة لمدة ١٠ دقائق.	لتحرير الهيموجلوبين من الخلايا الحمراء وتحويله الى سيانوميثيموجلوبين (Cyanomethemoglobin).
٣.	قم بقياس الكثافة الضوئية لمحلول السيانوميثيموجلوبين المتكون على الموجة الضوئية ٥٤٠ ميمك بعد ضبط صفر الامتصاصية على محلول درايبكين.	لاستخدام الكثافة الضوئية لحساب تركيز الهيموجلوبين بمقارنتها بجداول قياسية او بضربها بمعامل ثابت.
٤.	افصل التيار الكهربائي ونظف الادوات الزجاجية وموقع العمل واعد المواد والادوات الى اماكن حفظها وتخلص من العينة بعد اعتماد النتيجة.	تمهيدا لقياس تركيز الهيموجلوبين لمجموعة اخرى من العينات والمحافظة على نظافة المكان وسلامة البيئة.

الكفاية العملية - ١٠٠ -

قياس النسبة المئوية لهيموجلوبين الولادة

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على قياس النسبة المئوية لهيموجلوبين الولادة (HbF).

المبدأ :

لا يتفاعل هيموجلوبين الولادة مع المحاليل القلوية الى ترسب بقية الهيموجلوبينات .

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- محلول هيدروكسيد الصوديوم N/12 .
- أنابيب اختبار .
- جهاز تحليل طيفي .
- ٥٠% محلول كبريتات الأمونيوم .
- ٤ مل/ لتر محلول أمونيا .
- ماء مقطر .
- جهاز طرد مركزي .
- كلوروفورم .

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	إغسل الخلايا الحمراء للمريض ثلاث مرات بالمحلول الملحي	للتخلص من البلازما ومكوناتها.
٢.	كمن الخلايا الحمراء أسفل فتوب الطرد المركزي وافصل الطافي .	للحصول على حجم معلوم من الخلايا الحمراء المكمنة .
٣.	اضف إلى حجم الخلايا الحمراء حجم ونصف من الماء المقطر وحجم آخر من الكلوروفورم وأمزج محتويات الأنبوب جيدا .	للحصول على محلول الهيموجلوبين بعد تحلل الخلايا الحمراء .
٤.	عرض للطرد المركزي لمدة ٥ دقائق بسرعة ٣٠٠٠ د/د .	لفصل محلول الهيموجلوبين من عن الكلوروفورم ويقايا الخلايا الحمراء المكمنة .
٥.	قم بقياس تركيز محلول الهيموجلوبين بطريقة دراينكين وعدل تركيزه بالماء المقطر إلى ١٠ غ/دل .	للحصول على محلول خلايا هيموجلوبين .
٦.	اضف إلى ٠,١ مل من محلول الهيموجلوبين القياسي ١,٦ مل محلول N/12 هيدروكسيد الصوديوم وميزا الأنبوب بالحرف T بعد خلط محتوياته جيدا .	للحصول على محلول هيموجلوبين قلوي .
٧.	اضف ٣,٤ مل من محلول ٥% كبريتات الأمونيوم وأمزج محتويات الأنبوب جيدا لمدة دقيقة .	لترسيب الهيموجلوبين التي تتفاعل مع الوسط القلوي .
٨.	عرض الأنبوب للطرد المركزي بسرعة ٣٠٠٠ د/د لمدة ٣ دقائق .	لفصل الهيموجلوبينات المترسبة عن محلول Hb.F الطافي .

٩.	أضف إلى ٠.١ ملل من محلول الهيموجلوبين القياسي ٥ ملل من محلول ٤ملل/لتر أمونيا وميز الأنبوب بالحرف S بعد مزج محتوياته.	لتحضير محلول قياسي من الهيماتين القلوي يمثل ١٠٠%
١٠.	قم بقياس امتصاصية المحلول القياسي (S) ومحلول العينة (T) على الموجة الضوئية الامتصاصية على محلول الأمونيا.	لاستخدام المعادلة التالية في حساب النسبة المئوية لهيموجلوبين الولادة Hb.F = امتصاصية T العينة × ١٠٠ امتصاصية S المحلول القياسي
١١.	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد إلى أماكن حفظها بعد فصل التيار الكهربائي عن جهاز التحليل الطيفي.	استعدادا لإعادة التجربة وللحفاظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية - ١٠١ -

الكشف عن الهيموجلوبينات غير الطبيعية بالترحيل الكهربائي وقياس تركيزها

الهدف :

أن يكون الطالب قادراً على الكشف عن وجود هيموجلوبينات غير طبيعية وقياس تركيزها.

المبدأ :

يعرض محلول هيموجلوبين العينة ومحلول خليط الهيموجلوبينات المعروفة للترحيل الكهربائي في وسط قلوي باستخدام أمبيكات الميلوز كوسط ناقل وفي حالة ظهور نتائج غير طبيعية يعرض محلول الهيموجلوبين ومحلول خليط الهيموجلوبينات المعروفة للترحيل الكهربائي في وسط حامضي باستخدام هلام الأجار كوسط ناقل. تحمل الهيموجلوبينات في وسطها القاعدي (pH8,6) شحنات سالبة وتنتج أثناء الترحيل نحو القطب الموجب (Anode). تتحرك الهيموجلوبينات A2, C, D, F, S نحو القطب الموجب بسرعة أعلى من سرعة A وتسمى الهيموجلوبينات السريعة، يعمل التفاعل بين الهيموجلوبين والأجار ومنظم المسترات الحامضي على فصل الهيموجلوبينات التي تتحرك بسرعة واحدة في وسط أمبيكات الميلوز القاعدي مثل O, E, G, D, S.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- نظام متكامل للترحيل الكهربائي
- أمبيكات الميلوز .
- محلول منظم الباربيتال (pH8,6)
- شرائح أمبيكات الميلوز مشبعة .
- محلول منظم المسترات (pH6)
- محلول هيموجلوبين العينة (Hemolysin) يحضر بالخطوات ١-٥ من كفاية هيموجلوبين الولادة .
- محاليل هيموجلوبينات طبيعية وغير طبيعية متوقع التعرف عليها
- (O, E, G, S, D, C, F, A, A2) الخ .
- نظام متكامل للترحيل الكهربائي
- الأجار .
- ماسح ضوئي Scannar .
- ماء مقطر .
- شرائح هلام الأجار .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	امزج حجم من محلول هيموجلوبين العينة مع خمسة أحجام ماء فقط	لتخفيف محلول الهيموجلوبين وبالتالي انقاص امتصاصيته للضوء بعد صبغ مواقعه في الوسط الناقل .
٢.	عرض محلول هيموجلوبين العينة المخفف ومحلول خليط الهيموجلوبينات المعروفة	للتعرف على إمكانية وجود هيموجلوبينات غير طبيعية بمقارنة مواقع انتشار

للترحيل الكهربائي بواسطة اسيتات السيلوز في وسط قلوي (pH.8.6).	هيموجلوبينات العينة بمواقع انتشار هيموجلوبينات الخليط المرجعي .
٣. عرض محلول هيموجلوبين العينة المخففة والمحلول المرجعي للـ هيموجلوبينات للترحيل الكهربائي بواسطة هلام الاجار في وسط حامض pH.6.	لفصل الهيموجلوبينات التي تحركت بسرعة واحدة في الترحيل الكهربائي القلوي (اسيتات السيلوز) عن بعضها والتعرف عليها بالمقارنة مع مواقع انتشار هيموجلوبينات الخليط المرجعي .
٤. قارن بين محصلة فصل الهيموجلوبينات بواسطة اسيتات السيلوز مع محصلة فصلها بواسطة هلام الاجار .	للتعرف بشكل قاطع على طبيعة الهيموجلوبين غير الطبيعي .
٥. استخدم الماسح الضوئي لقياس امتصاصية مواقع هيموجلوبينات العينة .	لحساب النسبة المئوية لأي نوع من الهيموجلوبينات التي تم فصلها إلى مجموع الهيموجلوبون باستخدام المعادلة التالية : النسبة المئوية لأي هيموجلوبين = <u>امتصاصية الهيموجلوبين للضوء ١٠٠ x</u> مجموع امتصاصية الهيموجلوبينات
٦. نظف موقع العمل والادوات وتخلص من العينات وأعد الادوات والمواد والأجهزة إلى مواقع حفظها .	تمهيدا لاعادة التجربة وللحفاظ على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية - ١٠٢ -

الكشف عن مشتقات الهيموجلوبين

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على الكشف عن مشتقات الهيموجلوبين السامة
ممثل HbO_2 و $HbCO$ و $Meth.Hb$ و $Hb.S$.

المبدأ :

يتم التعرف على مشتقات الهيموجلوبين عن طريق تمييز الموجات
الضوئية التي تكون امتصاصية المحاليل للضوء عليها عالية.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- ماء مقطر.
- قطارة
- جهاز تحليل طيفي.

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	أضف ٠,١ ملل من الدم إلى ١٩,٩ ملل ماء مقطر وامزج جيدا.	للحصول على محلول هيموجلوبين الدم مخفف بنسبة ١:٢٠٠.
٢.	قم بقياس امتصاصية المحلول للضوء على الموجات الضوئية ٤٥٠-٦٥٠ ميك كل ٥٠ ميك مرة.	للتعرف على أي الموجات الضوئية تمثل قمة امتصاصية المحلول للضوء .
٣.	مثل العلاقة بين طول الموجة الصوتية وامتصاصية المحلول للضوء بخط بياني تكون طول الموجات على المحور السيني وامتصاصية المحلول للضوء على المحور الصادي.	للتعرف على نوع مشتقات الهيموجلوبين عن طرق شكل الخط البياني .
٤.	قم بانزال اسقاطات قم الخط البياني على المحور السيني .	للتعرف على الموجات الضوئية التي تقابل أعلى امتصاصية للضوء في المحلول، حيث تكون كما يلي : أ. $HbCO = ٥٧٠$ و ٥٣٥ . ب. ٥٠٠ و ٥٤٠ و ٥٧٨ . ج. $Meth. Hb = ٦٣٤$ و ٥٤٤ و ٥٧٦ . د. $HbS = ٦٤٠$ و ٥٤٨ و ٨٠ .
٥.	نظف الأدوات الزجاجية المستخدمة ومكان العمل وافصل التيار عن جهاز التحليل الطيفي.	تمهيدا لاعادة التجربة وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية - ١٠٣ -

قياس مكداس الدم

Packed cells volume (PCV) or Hematocrit

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على قياس النسبة المئوية لحجم الخلايا الحمراء مكسدة الى الحجم الكلي للدم.

المبدأ :

تقاس النسبة المئوية لطول عمود الخلايا في الأنابيب الشعرية إلى طول عمود الدم كاملا (خلايا حمراء + قرص الخلايا البيضاء وصفائح + عمود البلازما) بعد تكديس الخلايا بالطرد المركزي للتعبير عن النسبة المئوية لحجم الخلايا الحمراء المكسدة إلى الحجم الكلي للدم (PCV).

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- أنابيب شعرية هيارينية • صلصال او موقد بنموني
- جهاز طرد مركزي خاص بالأنابيب الشعرية (Hematofuge)
- مسطرة قياس مكداس الدم.
- مسطرة

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	امزج عينة الدم المجموعة على مانع تجلط بشكل جيد.	للتأكد من توزيع الخلايا الحمراء في العينة بشكل متجانس ومنع ترسيبها الجزئي.
٢.	املا ثلاثة ارباع انبوبة شعرية هيارينية بالدم.	كي يكون عمود الدم داخلها مناسباً لابعاد مسطرة القياس.
٣.	اقفل فتحة الانبوبة الشعرية من الجهة التي لم تلامس العينة بالصلصال او بواسطة لهاب بنموني بشكل محكم.	لمنع خروج عينة الدم أثناء تعرضها للطرد المركزي.
٤.	قم بلف الانبوبة الشعرية أثناء اقفالها بواسطة اللهاب.	لحفاظ على نهايتها مستقيمة ومنظمة بعد اكتمال قفلها.
٥.	تأكد من عدم تحريك عمود الدم داخل الانبوبة الشعرية وهي في وضع مائل او عمودي	للتأكد من اكتمال قفل نهايتها.

٦.	ضع الانبوبة الشعرية بشكل موزن مع بقية العينات في قرص جهاز الطرد المركزي بحيث تكون نهاياتها المفتوحة قريبة من محور الدوران ومثبتة في مواقعها بقطاء القرص بعد معرفة رقم موقعها.	للمحافظة على عينة الدم داخلها ومنع تحطمها أثناء الطرد المركزي ولتحديد هويتها.
٧.	عرض الدم في الاتابيب الشعرية لقوة طرد مركزي تعادل ١٠٠٠٠ د/د لمدة خمسة دقائق او ١٥٠٠٠ د/د لمدة ثلاثة دقائق.	للمعمل على تكديس الخلايا الحمراء في الجهة المقفلة من الانبوبة الشعرية بعيدا عن البلازما.
٨.	قم بقياس مكداس الدم للانبوبة الشعرية بعد توقف الطرد المركزي وإزالة غطاء القرص بتحريك الانبوبة الشعرية بين الضلعين المتوازيين للمسطرة حتى تطابق نهاية عمود الدم من جهة البلازما خط المئة ونهاية عمود الدم من جهة الخلايا الحمراء على خط الصفر.	لتقسيم طول عمود الدم بخطوط المسطرة الى مائة جزء متساوي
٩.	اقرأ رقم خط المسطرة المار في موقع التماس بين عمود الخلايا الحمراء وقرص الخلايا البيضاء والبلازما.	وذلك لمعرفة النسبة المئوية لطول عمود الخلايا الحمراء الى الطول الكلي للدم والتي تمثل مكداس الدم.
١٠.	تخلص من الاتابيب الشعرية وعينة الدم بعد اعتماد النتيجة ونظف المكان واطفئ الهب وأعد الأدوات الى مواقع حفظها.	تمهيدا لقياس مكداس الدم لمجموعة اخرى من العينات وللمحافظة على نظافة المكان وسلامة البيئة.

الكفاية العملية - ١٠٤ -

قياس سرعة ترسيب الخلايا الحمراء Erythrocytes Sedimentation Rate (ESR) بطريقة وسترجرين (Westergreen)

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على استخدام ماصات وسترجرين (Westergreen) في قياس سرعة ترسيب الخلايا الحمراء.

المبدأ :

تعرف سرعة ترسيب الخلايا الحمراء بطريقة وسترجرين بأنها عدد المليمترات التي يبتعد بها سطح الخلايا الحمراء عن سطح البلازما في عينة الدم المخففة خلال ساعة من الزمن تحت تأثير الجاذبية الأرضية وتتناسب طرديا مع امكانية تكوين التكتل الكاذب (Rolaux). تعتمد امكانية تكوين التكتل الكاذب على عدد من العوامل اهمها تركيز الفبرينوجين والجاما جلوبيولين وتتناسب طرديا ومكاداس الخلايا الحمراء ومدى تلوها بتناسب عكسي .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- ماصات وسترجرين Westergreen نظيفة وجافة.
- محلول ملحي (N.S) او ٣,٨% سترات الصوديوم.
- انابيب مصلية.
- حامل ماصات وسترجرين.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	خفف عينة الدم الممحوية من الوريد مباشرة بنسبة (١+٤) بمحلول ٣,٨ سترات الصوديوم والعينة المجموعة على EDTA بنسبة (١+٤) بالمحلول الملحي عن طريق مزج عبوة ماصة ويسترجرين من الدم مع ربع سمعتها من محلول التخفيف في انبوبة مصلية.	للمساعدة في فصل الخلايا الحمراء المترسبة عن البلازما بممستوى سطحي حاد.
٢.	اعد تعبئة ماصة ويسترجرين بعينة الدم المخففة حتى العلامة صفر بدون اية فقاعات هوائية وثبتها في حامل ماصات ويسترجرين بشكل عمودي.	لتعريض كتلة الخلايا الحمراء في عينة الدم المخففة لتأثير الجاذبية الارضية.
٣.	اترك ماصة ويسترجرين مثبتة بشكل عمودي في حاملها لمدة ساعة او ساعتين.	لاعطاء الفرصة لتكوين الروليكس وتكسب الخلايا الحمراء تحت تأثير الجاذبية ارضية خلال ساعة او ساعتين.

٤.	اقرأ المصفاة بالملم التي لبتعدها سطح الخلايا الحمراء المكتملة عن سطح البلازما.	لمعرفة مزرعة ترسيب الخلايا الحمراء بالملم/ ساعة.
٥.	افرغ ماصة ويسترجرين من محتوياتها مسن عينة الدم واغسلها جيدا ونظف الادوات واعدتها الى مكانها ونظف موقع العمل.	تمهيدا لاجراء التجربة على مجموعة اخرى من العينات وللحفاظ على نظافة المكان وسلامة البيئة.

الكفاية العملية - ١٠٥ -

قياس سرعة ترسيب الخلايا الحمراء باستخدام الأنابيب الشعرية

Zeta Sedimentation Rate (ZSR)

الهدف :

أن يكون الطالب قادراً على قياس سرعة ترسيب الخلايا الحمراء بواسطة الأنابيب الشعرية .

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- جهاز طرد مركزي (زيتافوج = Zetafuga).
- لهاب أو مصلصال.
- مسطرة قياس مكدهم الدم.
- جهاز طرد مركزي لقياس مكدهم الدم.
- أنابيب شعرية .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	امزج عينة الدم المجموعة على مائع تجلط بشكل جيد .	للتأكد من توزيع الخلايا الحمراء في العينة بشكل ممتاز .
٢.	املا ثلاثة أرباع أنبوبيين شعريين بعينة الدم.	كي يكون عمود الدم داخلها مناسباً لأبعاد مسطرة القياس .
٣.	اقفل فتحة الأنابيب الشعرية من الجهة التي لم تلامس العينة بالصلصال أو لهاب بنسون بشكل محكم .	لمنع خروج عينة الدم أثناء تعرضها للطرد المركزي .
٤.	قم بلف الأنابيب الشعرية أثناء قفلها باللهب.	للحفاظ على نهاياتها مستقيمة ومنظمة بعد اكتمال قفلها.
٥.	تأكد من عدم تحريك عمود الدم داخل الأنابيب الشعرية وهي في موضع مائل أو عمودي.	للتأكد من اكتمال قفلها.
٦.	عرض الدم في إحدى الأنبوبيتين للطرد المركزي بسرعة ١٠٠٠٠ د/د لمدة ثلاث دقائق.	للمعمل على تكديس الخلايا الحمراء في الجهة المقفولة من الأنبوبة الشعرية وقياس الهيماتوكريت.
٧.	عرض الدم في الأنبوبة الأخرى وهي في وضع عمودي لأربع دورات Zetafuge بحيث تستغرق الدورة ٥ ثانية.	لتكوين التكتل الكائن للخلايا الحمراء وترسيبها بواسطة جهاز زيتافوج في مدة ثلاث دقائق .
٨.	استخدم مسطرة قياس مكدهم الدم في قياس مكدهم الدم من الأنبوبة الأولى و Zetocrit من الأنبوبة الثانية.	لاستخدامها في حساب ZSR عن طريق المعادلة التالية : $\text{Hematocrit ZSR} \times 100$ Zetocrit

٩.	ضمن تقريرك للطبيب القيم الطبيعية ZSR ٤١-٥٤% للبالغين.	لمساعدته في تنشيط الحالات المرضية في حالة وجودها.
١٠.	نظف الأدوات والمواد وموقع العمل بعد أن تعيد المواد والأدوات إلى مواقعها.	تمهيدا لاعادة التجربة وللحفاظ على نظافة المكان وسلامة البيئة.

الكفاية العملية - ١٠٦ -

قياس النسبة المئوية للخلايا الشبكية

Reticulocyte percentage (Rt %)

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على قياس النسبة المئوية للخلايا الشبكية (Rt%).

المبدأ :

تعمل صبغتان Brilliant Cresyl Blue أو New Methylene Blue على معادلة جزيئات RNA المتبقية في الخلية الشبكية (الخلية الحمراء التي تحتوي على سيتوبلازم بدون نواة) وتربطها مع ما تبقى من الميثاكوندريا وجسيمات القيرتين على شكل سلاسل من الخيوط المتشابكة ذات اللون الأزرق. تعبر نسبة الخلايا الشبكية من خلال مؤشرها (RI) عن سرعة تكوين الخلايا الحمراء .

الأجهزة والاموات والمواد اللازمة :

- أنبوبة زجاجية ١٠×١١٠ ملم
- صبغة (NMB) New Methylene Blue او (BCB) Brilliant Cresyl Blue
- حمام مائي بدرجة ٣٧م.
- شرائح زجاجية نظيفة وجافة.
- مجهر بعنسة عينية مخططة وعصا شينية ١٠ و ٤٠ و ١٠٠.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	امزج قطرتين من عينة دم مع قطرتين من أي من صبغتان NMB او BCB في أنبوب زجاجي ١٠×١١٠ ملم وضعها في حمام مائي بدرجة ٣٧م لمدة ربع ساعة.	لاتاحة الفرصة لتفاعل جزيئات RNA الموجودة في الخلايا الشبكية مع الصبغة المستخدمة واكتسابها اللون الأزرق.
٢.	جهز طبقة متجانسة من الخليط على سطح شريحة زجاجية نظيفة وجافة وعرضها لتيار هوائي لتجفيفها .	تمهيدا لفحصها مجهريا للتعرف على الخلايا الشبكية وعددها.

٣.	استعرض طريقة الدم المصبوغة بالعدسة الشبكية ١٠.	للتأكد من تجانس توزيع الخلايا واكتمال عملية الصبغ.
٤.	قم بإيجاد عدد الخلايا الشبكية فيما لا يقل عن الف خلية حمراء موزعة على عشرة حقول مجهرية متتامة على العدسة الزيتية وذلك باستخدام معدل عدد الخلايا الحمراء على القطر الوهمي للحقول المجهرية كمؤشر على عددها في الحقل المجهرى الواحد كما هو موضح في الجدول أسفل الصفحة.	لايجاد النسبة المئوية للخلايا الشبكية في الخلايا الحمراء التي تم عددها في الحقول العشرة بالمعادلة التالية : مجموع الخلايا الشبكية في ١٠ حقول $\times 100$ مجموع الخلايا الحمراء في ١٠ حقول
٥.	نظف الأدوات الزجاجية وموقع العمل واعد الصبغة الى مواقع حفظها وفصل التيار الكهربائي عن المجهر بعد اعتماد النتيجة.	تمهيدا لاعادة التجربة على مجموعة اخرى من العينات عند الحاجة وللحفاظ على نظافة الموقع وسلامة البيئة.
٦.	احسب مؤشر الخلايا الشبكية RI باستخدام المعادلة التالية: $RI = Rt\% \times \frac{P.PCV}{N.PCV}$ حيث $n = 1$ إذا لم تشاهد خلايا حمراء قاعدية و $n = 2$ إذا ظهر خلايا حمراء قاعدية و P.PCV مكداس دم المريض و N.PCV مكداس الدم الطبيعي.	للاستدلال على سرعة تكوين الخلايا الحمراء في النخاع العظمي.

٩	١٠	١١	١٢	١٣	١٤	١٥	١٦	١٧	١٨	عدد خلايا القطر الوهمي الحقل المجهرى
٦٣	٧٨	٩٥	١١٣	١٣٣	١٥٤	١٧٧	٢٢٠	٢٢٦	٢٥٢	عدد الحقول المبرونة في الحقل المجهرى

الكفاية العملية - ١٠٧ -

قياس الهشاشية الأسموزية للخلايا الحمراء

المبدأ :

تتمثل الهشاشية الأسموزية للخلايا الحمراء بتركيز المحلول الملحي التي يبدأ ويكتمل فيها تحلل الخلايا الحمراء.

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على قياس الهشاشية الأسموزية للخلايا الحمراء.

الأدوات والمواد اللازمة:

- ١% كلوريد الصوديوم.
- أنابيب اختبار عدد ١١ (١٠×١١ ملم).
- ماء مقطر.
- جهاز تحليل طيفي.
- جهاز طرد مركزي.
- ماصة أوتوماتيكية سعة ٠.٦ ملم.
- ماصات زجاجية مدرجة سعة ٥ ملل.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	رقم ١١ أنبوبة نظيفة وجافة من ١ - ١١.	لإستخدامها في تحضير ١١ محلول مباشر من كلوريد الصوديوم أقل تركيزا من المحلول الملحي NaCl.
٢.	أخلط في (١) ٣,٨ ملل ماء مقطر مع ١,٢ ملل من ١% NaCl.	للحصول على محلول قياس NaCl تركيزه ٠,٢٤%.
٣.	أخلط في (٢) ٣,٦ ملل ماء مقطر مع ١,٤ ملل من ١% NaCl.	للحصول على محلول قياسي NaCl تركيزه ٠,٢٨%.
٤.	أخلط في (٣) ٣,٤ ملل ماء مقطر مع ١,٦ ملل من ١% NaCl.	للحصول على محلول قياس NaCl تركيزه ٠,٣٢%.
٥.	أخلط في (٤) ٣,٢ ملل ماء مقطر مع ١,٨ ملل من ١% NaCl.	للحصول على محلول قياسي NaCl تركيزه ٠,٣٦%.

٦.	أخلط في (٥) ٣,٠ ملم ماء مقطر مع ٢,٠ مل من ١% NaCl.	للحصول على محلول قياسي NaCl تركيزه ٠,٤٠%.
٧.	أخلط في (٦) ٢,٨ ملم ماء مقطر مع ٢,٢ مل من ١% NaCl.	للحصول على محلول قياسي NaCl تركيزه ٠,٤٤%.
٨.	أخلط في (٧) ٢,٦ مل ماء مقطر مع ٢,٤ مل من ١% NaCl.	للحصول على محلول قياسي NaCl تركيزه ٠,٤٨%.
٩.	أخلط في (٨) ٢,٤ مل ماء مقطر مع ٢,٦ مل من ١% NaCl.	للحصول على محلول قياسي NaCl تركيزه ٠,٥٢%.
١٠.	أخلط في (٩) ٢,٢ مل ماء مقطر مع ٢,٨ مل من ١% NaCl.	للحصول على محلول قياسي NaCl تركيزه ٠,٥٦%.
١١.	أخلط في (١٠) ٢,٠ مل ماء مقطر مع ٣,٠ مل من ١% NaCl.	للحصول على محلول قياسي NaCl تركيزه ٠,٦٠%.
١٢.	أخلط في (١١) ١,٨ مل ماء مقطر مع ٣,٢ مل من ١% NaCl.	للحصول على محلول قياسي NaCl تركيزه ٠,٦٤%.
١٣.	أضف إلى كل من المحاليل المحضرة الخطوات السابقة ٠,٠٢ مل من عينة المجموعة هبارين فقط وأمزجها بالتقلب.	لتوفر إمكانية تحليل الخلايا الحمراء بفصل المحاليل المحضرة.
١٤.	تخص المحاليل المخلوطة بعينة الدم بعد تركها ساكنة بدرجة حرارة الغرفة لمدة ٣٠ دقيقة.	لتحديد بداية التحلل أعلى تركيز يظهر فيه الطافي صافيا وأحمر اللون وبقيّة المحلول عكرا واكتمال التحلل (حيث لا يظهر أي أثر للخلايا الحمراء).
١٥.	ضمن تقريرك تركيز المحاليل الملحية الخاصة بابتداء التحلل واكتماله ومعدل التركيز (معدل الهشاشة) لعينة طبيعية.	لمقارنة نتائجها مع نتائج عينة المريض.
١٦.	قم بقياس امتصاصية الطافي الصافي للضوء على الموجة ٥٤٠ مميك بعد تعريض المحاليل للطررد المركزي بسرعة ٣٠٠٠د/د لمدة دقيقتين.	لحساب النسبة المئوية للتحلل (امتصاصية أي محلول تحلل جزئي إلى امتصاصية محلول اكتمال تحلل مضروبة بـ ١٠٠).
١٧.	مثل العلاقة بين النسبة المئوية لتحلل الخلايا الحمراء (على المحور النسيبي) وتركيز المحاليل المحلية (على المحور الصادي) بيانيا.	لمعرفة الشكل الطبيعي وغير الطبيعي لبعض الحالات المرضية كالتهكور الوراثي والثلاسيميا.
١٨.	نظف الأدوات ومكان العمل وافصل التيار الكهربائي عن أجهزة الطرد المركزي والتحليل الطيفي وأعد الأدوات والمواد إلى أماكن حفظها.	استعدادا لقياس هشاشة الخلايا الحمراء لعينات أخرى وللحفاظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية - ١٠٨ -

الكشف عن الخلايا المنجلية بالطريقة الرطبة

Wet test for Sickling

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على الكشف عن وجود خلايا حمراء تحتوي على هيموجلوبين منجلي عن طريق حجب الاكسجين عنها .

المبدأ :

يتبلر الهيموجلوبين المنجلي إلى بلورات عند تعرضه لنقص الأكسجين عند نضوبه بفعل Na- Metabisulphite ويجعل الخلايا الحمراء التي تحتويه منجلية الشكل .

الأجهزة والاموات والمواد اللازمة :

- فازلين
- ورقة بيضاء صغيرة
- شرائح زجاجية نظيفة وجافة
- اغطية شرائح زجاجية نظيفة وجافة
- مجهر يوفر العدسات الشيئية ١٠ و ٤٠
- محلول ٢% ميتابايسولفايت الصوديوم.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	وزع الفيزالين على شكل طبقة رقيقة متجانسة السمك على سطح ورقة بيضاء باستخدام شريحة زجاجية .	لاستخدام طبقة الفيزالين لاحتاطة حواف احد سطوح غطاء الشريحة باطار من الفيزالين.
٢.	اغمس الحواف الاربعة لسطح غطاء شريحة زجاجية بطبقة الفيزالين.	لتكوين اطار متجانس السمك من الفيزالين على حواف سطح غطاء الشريحة.
٣.	امزج قطرة دم بحجم رأس القلم مع حجمين من ٢% ميتابايسولفايت الصوديوم (2% Na metabisulphite) كعامل مختزل للاكسجين على سطح غطاء الشريحة داخل اطار الفيزالين واضغط فوقه شريحة زجاجية نظيفة وجافة بشكل عمودي.	لعمل على نضوب الاكسجين من عينة الدم المحبوزة بعيدا عن الهواء بشكل محكم في اطار الفيزالين وللمنع جفاف العينة.
٤.	امزج قطرة دم من العينة مع قطرة محلول ملحي بنفس الطريقة السابقة.	للحصول على عينة مرجعية.

٥.	قارن بين شكل الخلايا الحمراء التي اضيف اليها محلول ٢% ميتابايسولفايت الصوديوم الى شكل الخلايا الحمراء المضاف اليها المحلول الملحي مباشرة وبعد نصف ساعة وساعتين .	للتحري عن امكانية ظهور الخلايا الحمراء المنجلية في حالة غياب الاكسجين.
٦.	نظف الادوات الزجاجية وموقع العمل والمجهر واعد المواد والادوات التي اماكن حفظها بعد مرور ساعتين.	تمهيدا لاستخدامها في الكشف عن الخلايا المنجلية عند النزوم وللحفاظ على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية - ١٠٩ -

قياس زمن النزف (B.T) Bleeding Time من اطراف الاصابع او

ملتحمة الاذن بطريقة (Duke).

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على قياس زمن النزف من جرح قياسي في طرف الاصبع او في ملتحمة او شحمة الاذن.

المبدأ :

يعرف زمن النزف بأنه الزمن بالدقائق اللازم لتوقف الدم عن الخروج من جرح قياسي في ملتحمة الاذن أو طرف الاصبع ويعبر عن نشاط الصفائح الدموية. يقدر زمن النزف الطبيعي (٢-٥ دقيقة) .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- ادوات وخز حادة ومعقمة (لانسيكات Lancets) .
- ساعة توقيت بالدقائق والثواني Stopwatch
- ورق ترشيح

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	ابدأ التوقيت لزمن النزف بعد احداث جرح قياسي في طرف الاصبع او ملتحمة الاذن.	لأن النزف يبدأ بعد تهتك الاوعية الدموية عند احداث الجرح القياسي.
٢.	اسقط سطح سطح حافة شريحة ورقة ترشيح على الجرح القياسي وارفعها عنه بشكل عمودي كل ٣٠ ثانية.	لالتقاط الدم في حالة استمرار نزفه.
٣.	استمر في الخطوة السابقة حتى لا تلتقط ورقة الترشيح أي أثر للدم.	لأن عدم ظهور أي أثر للدم على ورقة الترشيح يعني توقف الدم عن الخروج من الجرح وانتهاء زمن النزف.
٤.	احسب عدد النقاط التي تم التقاطها على ورقة الترشيح.	كي يمكن التعرف على زمن النزف الذي يمكن التأكد منه بمساعة التوقيت.
٥.	تخلص من ورقة الترشيح و اواخز الممتخدم ونظف موقع العمل واعد الادوات الى اماكن حفظها.	تمهيدا لاعادة التجربة والمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية - ١١٠ -

قياس زمن النزف (BT) Bleeding Time من مقدمة الساعد

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على قياس زمن النزف من مقدمة الساعد.

المبدأ :

يعرف زمن النزف بأنه معدل الزمن بالدقائق اللازم لخروج الدم من جرحين قياسييين في مقدمة الساعد بعد تعرضه لضغط ٤٠ ملم زئبقي ويعبر عن نشاط الصفائح الدموية. يقدر زمن النزف الطبيعي بأقل من ١١ دقيقة .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- ادوات وخز حادة ومعقمة (لانسيتات (Lancets).
- جهاز قياس ضغط الدم مع حزامه الضاغط .
- ساعة توقيت بالدقائق والثواني.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	اربط ذراع المريض بحزام ضاغط وعرضه لضغط ٤٠ ملم زئبقي.	لتوفير ظروف قياسية ثابتة لنزف الدم من الجرح القياسي.
٢.	قم بإحداث جرحين قياسييين في مقدمة ساعد المريض بعد تنشيط الدورة الدموية بثني الساعد وتعقيم الموقع بحيث يبعد كل منهما عن الآخر ١ سم ويسبق احدهما الآخر بدقيقة واحدة ، وفي موقع بعيد عن الاوردة السطحية.	لاتاحة الفرصة لنزف الدم من جرحين قياسييين وزيادة دقة النتائج.
٣.	النقط الدم من كل جرح على حدة بورقة ترشيح باسقاطها على الجرح ورفعها بشكل عمودي على الورقة كل ٣٠ ثانية حتى لا يظهر أي اثر للدم.	لأن عدم ظهور أي اثر للدم على سطح ورقة الترشيح دليل على توقف خروج الدم من الجرح القياسي ونهاية زمن النزف.
٤.	اعتمد معدل زمن النزف للجرحين القياسيين.	لضمان دقة النتائج.

٥.	انزع حزام الضغط عن ذراع المريض إذا تجاوز زمن النزف ١٥ دقيقة واضغط الجرح بقطعة قطن مبللة بالكحول .	لمنع تعرض المريض للنزف.
٦.	انزع حزام الضغط عن ذراع المريض وتخلص من ورق الترشيع المستخدم واعد الأدوات الى أماكن حفظها ونظف الموقع.	تمهيدا لاعادة التجربة عند الحاجة والمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية - ١١١ -

قياس زمن تجلط الدم (Clotting Time) باستخدام الشرائح الزجاجية

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على قياس زمن تجلط الدم من جرح قياسي في الجلد باستخدام الشرائح الزجاجية.

المبدأ :

يعرف زمن التجلط بأنه الزمن بالدقائق اللازم لتجلط الدم بدرجة حرارة الغرفة والذي يتمثل بظهور خيط الفيبرين عند رفع رأس دبوس من مركز قطرة الدم الموجودة على شريحة بعيدا عن سطحها ١-٢ ملم . تتميز هذه الطريقة بعدم امكانية التحكم بالعوامل الخارجية التي تؤثر على زمن التجلط .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- ادوات وخز حادة ومعقمة (لاتسيت)
- ساعة توقيت بالدقائق والثواني
- شرائح زجاجية نظيفة وجافة
- Stop watch

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	ابدأ التوقيت لزمن التجلط بعد احداث جرح قياسي في الجلد (طرف الاصبع).	لان عملية تجلط الدم عند خروج الدم من الاوعية تبدأ بعلاممة سطح خارجي.
٢.	ضع قطرة دم قطرها ١-٢ ملم في وسط سطح شريحة نظيفة وجافة.	للتمكن من مراقبة عملية تجلط الدم بظهور الفيبرين.
٣.	ضع رأس الواخزة على سطح الشريحة وهي في مستوى افقي واحد مع العينين عند حافة قطرة الدم وادخله في مركزها وارفعه بعيدا عن سطحها لمسافة ١-٢ ملم وكرر هذه الخطوة كل نصف دقيقة حتى ظهور خيط فيبرين.	لمسح وملاحظة خيط الفيبرين في حالة اكتمال تكوين خيط الفيبرين دلالة على نهاية زمن التجلط.
٤.	تخلص من الواخزة ونظف الشرائح وجففها واعد الساعة الى مكان حفظها ونظف موقع العمل.	تمهيدا لاعادة التجربة عند اللزوم والمحافظة على نظافة المكان وسلامة البيئة

الكفاية العملية - ١١٢ -

قياس زمن تجلط الدم (Clotting Time) باستخدام الانابيب الشعرية

(Capillary Tubes)

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على استخدام الانابيب الشعرية في قياس زمن تجلط الدم (C.T) من جرح قياسي في الجلد.

المبدأ :

يعرف زمن تجلط الدم بأنه الزمن بالدقائق اللازم لتجلط الدم بدرجة ٧٣ م والذي يتمثل بعدم انسياب الدم في الانبوب الشعري الخالي من الهيبارين وهو في وضع عمودي. تتميز طريقة الانابيب الشعرية بإمكانية التحكم في معظم العوامل الخارجية التي تؤثر في تجلط الدم ويجب استخدامها في حالة عدم توفر إمكانية استخدام أنابيب الاختبار يُقدر زمن التجلط الطبيعي بهذه الطريقة بـ ٣-٥ دقائق.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- أنابيب شعرية خالية من الهيبارين.
- ساعة توقيت بالدقائق والثواني Stopwatch

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	اقبض كف يدك اليماني حتى التعرق.	لاستخدام قبضة اليد كحاضنة بدرجة ٣٧ مئوية.
٢.	ابدا توقيت زمن التجلط بعد احداث جرح قياسي في سطح الجلد (طرف الاصبع).	لأن عملية تجلط الدم تبدأ عند خروج الدم من الاوعية الدموية وملامسته لسطح خارجي.
٣.	املا نصف انبوبة شعرية خالية من الهيبارين بالدم من جرح قياسي وضعها في راحة اليد المقبوضة في وضع افقي.	لتوفير درجة الحرارة المثالية لعملية تجلط الدم (٣٧ م).
٤.	اجعل الانبوبة الشعرية بزواوية مع وضعها الاقني كل نصف دقيقة مرة وبزيادة تدريجية في الزاوية .	لمراقبة انسياب عمود الدم داخل الانبوبة الشعرية عند امالتها.

٥.	استمر في الخطوة السابقة حتى توقف الدم عن الانسياب في الأنبوبة الشعرية وهي في وضع عمودي .	لأن توقف الدم عن الانسياب دلالة على اكتمال زمن التجلط.
٦.	أكبر الأنبوب الشعري في منتصف عمود الدم وباعد بين قسميه مسافة ١-٢ ملم.	لمشاهدة خيط الفبرين الذي يؤكد اكتمال زمن التجلط.
٧.	تخلص من الانابيب الشعرية والواخزة المستخدم ونظف موقع العمل.	تمهيدا لاعادة التجربة وللحفاظ على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية - ١١٣ -

قياس زمن تجلط الدم (Clotting Time) باستخدام انابيب الاختبار

(بطريقة Lee & White)

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على قياس زمن تجلط الدم الوريدي باستخدام انابيب الاختبار.

المبدأ :

يعرف زمن التجلط بأنه الزمن بالدقائق اللازم لتجلط الدم بدرجة ٣٧ م والذي تتمثل بعدم انسحاب الدم في انبوب الاختبار وهو مقلوب. تتميز طريقة لى ووايت بإمكانية التحكم في معظم العوامل الخارجية التي تؤثر على زمن التجلط. يقدر زمن التجلط الطبيعي بهذه الطريقة (٥ - ١١ دقيقة).

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- حمام مائي بدرجة ٣٧ م.
- ساعة توقيت بالدقائق والثواني Stopwatch
- انابيب اختبار ١٠ × ١١ ملم.
- حقن سعة ٢,٥ ملل مع ابرها.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	ضع ثلاثة انابيب اختبار في حمام مائي بدرجة ٣٧ م لمدة خمس دقائق.	لاكتساب الانابيب درجة حرارة الحمام المائي (٣٧ م).
٢.	ابدأ التوقيت لزمن التجلط بظهور الدم في مقدمة الحقنة اثناء جمع الدم من الوريد.	لان عملية تجلط الدم تبدأ عند خروج الدم من الاوردة ولاممته لسطح خارجي.
٣.	وزع ٢ ملل من الدم في الانابيب الثلاثة الموجودة في الحمام المائي بشكل متساوي.	لتوفير درجة الحرارة المناسبة لعملية تجلط الدم.
٤.	اخرج الانابيب الثلاثة من الحمام المائي كل على حدة وامله تدريجياً حتى الوضع العمودي المقلوب بحيث يفصل اخراج أي انبوب عن اخراج الذي سبقه ٣٠ ثانية.	لمراقبة انسحاب الدم داخل كل انبوب عند امالته.

٥.	استمر في الخطوة السابقة على الانابيب الثلاثة حتى بقاء الدم ثابتا في قعر الأنبوب وهو مقلوب بشكل عمودي.	لأن عدم انسياب الدم وثباته في قعر الأنبوب المقلوب دليل على اكتمال تجلط الدم.
٦.	اعتمد معدل زمن تجلط الدم في الانابيب الثلاثة اذا كان متقاربا (على مدى ٣-٤ دقائق)، واعتمد معدل زمن التجلط في أي أنبوبتين لا يزيد الفرق بين زمن التجلط فيها عن دقيقتين اذا زاد مدى زمن التجلط في الانابيب الثلاثة عن خمسة دقائق.	لأن استخدام ثلاثة انابيب يوفر دقة عالية في معرفة زمن التجلط.
٧.	تخلص من الحقن المستخدمة ونظف الانابيب وموقع العمل بعد اعتماد زمن التجلط والفصل التيار عن الحمام المائي.	تمهيدا لاجراء التجربة مرة اخرى وللحفاظ على نظافة المكان وسلامة البيئة.

الكفاية العملية - ١١٤ -

قياس زمن البروثرومبين

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على قياس زمن البروثرومبين وحساب النسبة المئوية لنشاط البروثرومبين والنسبة الدولية الطبيعية للبروثرومبين (INR).

المبدأ :

يعرف زمن البروثرومبين بأنه الزمن باللثواني اللازم لتجلط البلازما المجموعة على مسترات أو اكسلات بعد استعادتها لأيونات الكالسيوم بوجود ثرومبوبلاستين الأنسجة. يستخدم زمن البروثرومبين في متابعة العلاج لمميعات الدم ولتقدير كفاءة الكبد .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- ٠,١ مول اكسلات الصوديوم أو ٣,٨% مسترات الصوديوم كمانع تجلط.
- محلول ثرومبوكاينيز Thrombokinas (خليط من ثرومبوبلاستين وكلوريد الكالسيوم).
- انابيب اختبار ١١٠×١٠ ملم عدد اربعة.
- بلازما طبيعية مرجعية.
- ساعة توقيت دقائق وثواني Stopwatch
- جهاز الكشف عن خيوط الفبرين Fibrinometer.

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	اخذ حجم (٠,٥ ملل) من ٠,١ مول اكسلات الصوديوم مع تسعة احجام (٤,٥ ملل) عينة دم في انبوب طرد مركزي.	للتأكد من عدم حدوث جلطة باستبعاد ايونات الكالسيوم.
٢.	عرض الانبوبة لقوة طرد مركزي خلال ٤٥ دقيقة من سحب العينة بسرعة ٣٠٠٠ د/د لمدة ثلاث دقائق.	لفصل الخلايا الحمراء عن البلازما.
٣.	ضع في حمام مائي بدرجة ٣٧°م انبوبيتين ١٠×١١ ملم للعينة وانبوبيتين اخريين للبلازما المرجعية وضع في كل منها ٠,١ ملل من العينة او البلازما المرجعية واتركهم عدة دقائق.	كي تكتسب الانابيب والعينة والبلازما المرجعية درجة حرارة الحمام المائي.

٤.	اضف الى احدى انابيب العينة ٠,٢ ملل من محلول ثروميوكلينيز بدرجة ٣٧ م وابدأ بعد مرور ١٠ ثواني من مزجها بالعينة بالكشف عن حدوث جلطة بلازمية بواسطة فيرينوميتر او باخراج الانبوبة من الحمام المائي وامالتها عن وضعها العمودي تدريجيا كل نصف ثانية مرة حتى ظهور الجلطة .	لمعرفة زمن البروثرومبين المبدئي للعينة عن طريق تجلط الخليط.
٥.	اضف الى الانبوبة الثانية للعينة ٠,٢ ملل من محلول ثروميوكلينيز بدرجة ٣٧ م وابدأ بعد مرور اقل من الزمن المبدئي بشائتين الكشف عن حدوث جلطة بلازمية بنفس الطريقة السابقة.	لمعرفة زمن البروثرومبين الحقيقي والسدي معتمد في التقرير .
٦.	قم باعادة الخطوتين ٥,٤ على انابيب البلازما المرجعية .	لمعرفة زمن البروثرومبين الطبيعى المرجعي .
٧.	نظف الانابيب المستخدمة وموقع العمل واعد المواد والادوات والمواد الى اماكن حفظها .	تمهيدا لاعادة التجربة على مجموعة عينات اخرى عند الحاجة وللحفاظ على نظافة المكان وسلامة البيئة.
٨.	ضمن تقريرك زمن البروثرومبين للمريض وزمن بروثرومبين العينة المرجعية أو النسبة المئوية لنشاط البروثرومبين من الخطوط البيانية أو محصلة تطبيق المعادلات التالية : أ. زمن بروثرومبين المريض زمن بروثرومبين العينة المرجعية ب. زمن بروثرومبين العينة المرجعية $\times 100$ زمن بروثرومبين المريض ج. أرفع نسبة البروثرومبين R الى قوة المؤشر الدولي لحساسية البروثرومبين (ISI) كما يلي: R^{ISI}	لمساعدة الطبيب في تقييم نتيجة الفحص . لحساب نسبة البروثرومبين Prothrombin Rate(R) لحساب مؤشر البروثرومبين Prothrombin (Index) لحساب النسبة الدولية الطبيعية للبروثرومبين (INR).

الكفاية العملية - ١١٥ -

قياس زمن الثرومبوبلاستين الجزئي

Partial Thromboplastin Time (PTT)

الهدف :

أن يكون الطالب قادراً على قياس زمن الثرومبوبلاستين الجزئي ومعرفة أهميته العملية.

المبدأ :

يعتمد قياس زمن الثرومبوبلاستين الجزئي على تسريع عملية تكوين عامل التجلط XIa (عامل التماس المنشط) وعامل الصفائح رقم ٣ المكون من الشحوم البروتينية والتي تعتبر أبطأ تفاعلات تجلط الدم بمساعدة الكاولين.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- محلول ٣,٨ % مسترات الصوديوم.
- معلق الكاولين في محلول منظم الباريتون (pH 7.35) وبتركيز ٥ملغم/ملل.
- أنابيب طرد مركزي.
- جهاز طرد مركزي.
- أنابيب اختبار ١١٠×١٠ ملم
- حمام مائي بدرجة ٣٧°م
- محلول شحوم فسفورية (معلق مستخلص الدماغ البشري بالكلورفورم رسب بالأسيتون في المحلول الملحي بنسبة ١-١,٥%).
- ماصات أوتوماتيكية وزجاجية.
- محلول كلوريد الكالسيوم بتركيز ٠,٠٢٥ مول.

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	أمزج الدم ٤,٥ ملل دم مع ٠,٥ ملل مع محلول ٣,٨ % مسترات الصوديوم أو ٠,١ مول اكسيلات الصوديوم وعرضها للطرد المركزي بسرعة ٣٠٠٠/دقيقة ١٥ دقيقة.	لمنع تجلط الدم وفصل البلازما.
٢.	أمزج حجمين متساويين من محلول كلوريد الكالسيوم ومعلق الشحوم للفسفورية في أنبوب ١١٠×١٠ ملم وضعه في حمام مائي بدرجة ٣٧°م لمدة لا تقل عن ٥ دقائق.	كي يكتسب الأنبوب والخليط داخله درجة ٣٧°م.

٣.	أوسم أنبوبيتون ١١٠ × ١٠ ملم لكل عينة وأنبوبيتين أخريين للعينة المرجعية ولمزج داخل أنابيب العينات ٠,١ ملل البلازما مع ٠,١ ملل معلق كاولين وضع الأنابيب في حمام مائي بدرجة ٣٧° م لمدة ٥ دقائق.	كسي يكتسب الأنابيب ومحتوياته درجة ٣٧° م.
٤.	أضف إلى محتويات أحد أنابيب أي عينة ٠,٢ ملل من معلق الكالسيوم والشحوم الفسفورية الذي بدرجة حرارته ٣٧° م وأبدأ بعد مرور ٣٠ ثانية من مزج محتويات الأنبوب الكشف عن ظهور الجلطة بواسطة الفيبرينوميتر أو بإخراج الأنبوبة وأملتها عن وضعها العمودي تدريجيا كل نصف ثانية مرة حتى ظهور جلطة.	لمعرفة زمن الثرومبولاستين الجزئي بشكل أولي عن طريق تشغيل ساعة التوقيت عند مزج محتويات الأنبوب وإيقافها عند ظهور الجلطة.
٥.	قم بالخطوة السابقة لكل عينة وللعينة المرجعية مرتين بحيث يبدأ الكشف عن الجلطة قبل القراءة الأولى بثلاث ثواني.	لإعتداد معدل زمن الثرومبولاستين الجزئي في الأنبوبتين في التقرير.
٦.	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد إلى مواقع حفظها.	تمهيدا لإعادة التجربة عند اللزوم وللحفاظ على نظافة الموقع وملازمة البيئة.
٧.	قارن في تقريرك بين زمن الثرومبولاستين الجزئي للعينة وللعينة المرجعية (الطبيعية) وضمنه القيم الطبيعية لزمن الثرومبولاستين الجزئي (٣٥-٤٥ ثانية).	لمساعدة الطبيب في استبعاد نقص أي من عوامل التجلط X و IX و VIII و V عن طريق زيادة زمن الثرومبولاستين الجزئي عن حده الأعلى الطبيعي (< ٥٤ ثانية) وتكون الزيادة < ٧ ثوان في حالة مرض الناعور ومعرض كريمة تملن.

الكفاية العملية - ١١٦ -

قياس زمن الثرومين Thrombin Time

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على قياس زمن الثرومين واستخدامه في التعرف على نفاذ الفيبرينوجين أو وجود الهيبارين أو نتائج تحليل الفيبرين.

المبدأ :

يمرّف زمن الثرومين بالوقت الذي يلزم لتحويل الفيبرينوجين الى فيبرين ويحدد بقياس زمن تجلط البلازما بعد إضافة الثرومين إليها بوجود كبريتات البروتامين أو غيابها.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- أنابيب إختبار ١١٠ × ١٠ ملم
- ماعة توقيت بالثواني
- حمام مائي بدرجة ٣٧°م
- كبريتات البروتامين في المحلول الملحي بتركيز ١٠ ملغم/د.
- ٣,٨% مسترات الصوديوم أو ٠,١ مول/ لتر او كسلات الصوديوم.
- ماصات أوتوماتيكية وزجاجة.
- محلول ثرومين مع كلوريد الكالسيوم: يتم إذابة محتويات حاوية ثرومين بشري (٠,٥٠) في ١ ملل ماء مقطر وتمزج بعد ترويقها لمدة خمسة دقائق بدرجة حرارة الغرفة مع ٩ ملل ٠,١ مول/لتر كلوريد الكالسيوم، يحضر هذا المحلول يوميا ويحفظ بدرجة ٤°م.

الوقت	الخطوات	المبررات
١.	أمزج ٤,٥ ملل دم مع ٠,٥ ملل ٣,٨% مسترات الصوديوم أو ٠,١ مول/لتر او كسلات الصوديوم وعرض الخليط للطررد المركزي بسرعة ٣٠٠٠ د/د لمدة ١٥ دقيقة.	لمنع تجلط الدم لفصل البلازما عن بقية الخلايا الدموية.
٢.	ضع ٠,٢ ملل من البلازما في كل من أربعة أنابيب ١١٠ × ١٠ ملم مميزات بالأرقام ١-٤ و ٠,٢ ملل من بلازما مرجعية في أنبوتين مميزتين بالأرقام ٦,٥ وضع جميع الأنابيب بدرجة ٣٧°م لمدة دقائق.	كي تكتسب الأنابيب ومحتوياتها درجة ٣٧°م.

٣.	ضلع في الأنابيب المميزة بالأرقام ١، ٢، ٣، ٤ ملل من محلول كبريتات البروتامين وأعداها بعد المزج للحمام المائي لعدة دقائق.	لإبطال عمل الهيارين في حالة وجوده في العينة واكتساب درجة ٣٧.
٤.	أضف إلى الأنبوب الأول ١٠ ملل من محلول الثرومبين وكلوريد الكالسيوم بدرجة ٣٧ وأبدأ بعد مرور ١٠ ثوان الكشف عن ظهور جلطة بواسطة الفيرينوميتر أو بإحالة الأنبوب بتزايد تدريجي كل نصف ثانية مرة.	لمعرفة زمن الثرومبين عن طريق تشغيل ساعة توقيت عند إضافة محلول الثرومبين وكلوريد الكالسيوم.
٥.	أعد الخطوة الرابعة على الأنبوب رقم (٢) بحيث تبدأ الكشف عن ظهور الجلطة قبل الزمن في الأنبوب الأول بـ ٣ ثواني.	لإعتماد معدل زمن الثرومبين في التقرير عندما يزيد عن ٢٠ ثانية في حالة نفاذ الفيرينوجين (> ١٠٠ ملغم/دل) أو وجود الهيارين أو نتائج الفيرين أو زيادة تركيز أمينوجلوبولين.
٦.	نفذ الخطوات ٤ و ٥ على محتويات الأنابيب ٣ و ٤ وراقب شكل الجلطة.	للتعرف على مدى وجود الهيارين وتوفر الفيرينوجين إذ تشير زيادة زمن التجلط وتكوين جلطة متماسكة إلى نقص الفيرينوجين وتشير بقاء زمن التجلط طبيعي (> ٢٠ ثانية) وجلطة متماسكة إلى وجود الهيارين.
٧.	نفذ الخطوات ٤ و ٥ على محتويات الأنابيب ١ و ٥ الخاصة بالعينة المرجعية.	للتعرف على مدى صلاحية المحاليل المستخدمة إذ تعتمد النتائج إذا كان زمن ثرومبين العينة المرجعية ٨ - ١٠ ثوان.
٨.	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد إلى مواقع حفظها.	تمهيدا لإجراء التجارب اللاحقة والمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية - ١١٧ -

قياس تركيز الفيرينوجين في البلازما

الهدف :

أن يكون الطالب قادراً على قياس تركيز الفيرينوجين في بلازما المريض

المبدأ :

يُقاس تركيز الفيرينوجين في عينات البلازما المجموعة على مسترات بإعادة أيونات الكالسيوم بوجود الثروموبلاستين والسماح بتجلط البلازما وتكوين شبكة الفيرين التي يمكن جمعها على عود خشبي أو قضيب زجاجي تُذاب شبكة الفيرين في محلول هيدروكسيد الصوديوم بمساعدة التسخين، تقاس امتصاصية المحلول الناتج من مفاعلة الفيرينوجين الناتج مع محلول بايوريد على الموجة الضوئية ٥٤٥ ميمك.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- أنابيب اختبار ١١٠ × ١٠ ملم.
- محلول بايوريد أو بنيدكت.
- محلول كلوريد الكالسيوم بتركيز ٠.٢٥ مول/لتر.
- محلول ٠.٧٥ معياري هيدروكسيد الصوديوم.
- أنابيب طرد مركزي.
- حمام مائي بدرجة ٧٠ م.
- محلول ثرومين تركيزه ١٠٠ أو/للمل.
- ماصات أوتوماتيكية وزجاجية.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	أمزج ٤,٥ ملل دم مع ٠,٥ ملل من محلول ٣,٨ % مسترات الصوديوم وعرض للطرد المركزي بسرعة ٣٠٠ د/د لمدة ٥ دقائق.	لمنع تجلط الدم وفصل البلازما عن الخلايا الدموية.
٢.	أمزج في أنبوب اختبار ٣ ملل محلول ملحي مع ١ ملل بلازما مع ١ ملل من ٠,٢٥ مول/لتر كلوريد الكالسيوم و ٠,٢ ملل محلول ثرومين وأغمس في الخليط قضيب زجاجي وأترك الأنبوب في حمام مائي بدرجة ٣٧ م لمدة نصف ساعة.	لتوفير الظروف المناسبة لتكوين واكتمال جلطة بلازمية.

٣.	اضغط القضيب الزجاجي المغموس بالجلطة على الجدار الداخلي للأنبوب وأدره عدة مرات.	لتخلص من المحلول المصلى وجمع خيوط الفيبرين على شكل طبقة محكمة التماس مع سطح القضيب الزجاجي.
٤.	اغسل طبقة الفيبرين التي تم جمعها على سطح القضيب الزجاجي بالمحلول الملحي ٣مرات.	لتخلص من جميع بروتينات المصل.
٥.	اغسل طبقة الفيبرين الموجودة على القضيب الزجاجي في ٥ ملل محلول ٠,٧٥ معياري هيدروكسيد الصوديوم بدرجة الغليان في أنبوب اختبار مميز بالعلامة T لمدة ٥ دقائق.	للمساعدة على تحلل الفيبرين عن طريق مفاعله مع الماء وتوفير وسط قلوي لقياس تركيز البروتين.
٦.	ضع في أنبوبة مخبرية مميزة بالحرف B ٥ مليلتر من ٠,٧٥ معياري هيدروكسيد الصوديوم.	لإستخدامه كمحلول بلاتك في التحليل الضوئي.
٧.	ضع في أنبوبة أخرى مميزة بالحرف S ٤,٩ ملل ٠,٧٥ معياري هيدروكسيد الصوديوم مضافا لها ٠,١ ملل محلول بروتين.	لإستخدامه كمحلول قياسي في التحليل الضوئي.
٨.	أضف إلى جميع الأنابيب المميزة بالحروف T, S, B ١ ملل محلول بتيديكيت أو محلول بايوريت وأمزجه جيداً وأحفظه لمدة ٢٠ دقيقة.	لإستكمال مفاعلة روابط بيتايد البروتين مع كبريتات النحاس القلوية المكونة لمحلول بتيديكيت أو بايوريت.
٩.	قم بقياس امتصاصية محلول العينة T والمحلول القياسي S على الموجة ٥٤٥ ميك بعد ضبط صفر الإمتصاصية على محلول البلاتك.	لحساب تركيز الفيبرينوجين بالمعادلة التالية: تركيز الفيبرينوجين بالملم/دل = بتنصصه لـ « تركيز المحلول القياسي ١٠ × تنصصية المحلول القياسي ٩
١٠.	نظف الأدوات ومكان العمل بعد فصل التيار الكهربائي عن جهاز التحليل الطيفي وأعد الأدوات والمواد إلى أماكن حفظها.	استعدادا لإعادة التجربة على عينات أخرى والمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

دراسة تكوين الجلطة الدموية وضمورها Clot Formation and Retraction

الهدف:

أن يكون الطالب قادراً على معرفة كفاءة عوامل التجلط والصفائح الدموية عن طريق مراقبة تكوين الجلطة وضمورها.

المبدأ:

يعبر شكل الجلطة الدموية وآلية تكوينها عن كفاءة أو مدى توفر عوامل التجلط والصفائح الدموية.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة:

- جرح نازف أو عينة دم وريدية
- جهاز طرد مركزي
- أعواد خشبية
- أنابيب شعري
- أنابيب طرد مركزي مخروطية ومدرجة سعة ١٥ ملل.
- حاضنة كهربائية بدرجة ٣٧°م.

الرقم	الخطوات	المجربات
١.	ضع ٥ ملل دم في أنبوبة طرد مركزي مخروطية ومدرجة سعة ١٥ ملل خالية من مانع التجلط.	السماح بإطلاق عملية التجلط في ظروف قياسية.
٢.	اغمس في عينة الدم عود خشبي أو سلك مثلي الرأس.	لإستخدامه في انتزاع الجلطة الدموية من داخل الأنبوب بعد إكمال التجلط.
٣.	ضع عينة الدم في حاضنة كهربائية بدرجة ٣٧°م لمدة ٤ ساعات.	لتوفير الظروف المناسبة لتجلط الدم وضمورها الجلطة.
٤.	إملأ أنبوب شعري مبطن بالهيارين حتى ثلثه.	لإستخدامه في قياس الهيماتوكريت.
٥.	تفحص الجلطة الدموية وتأكد مما يلي: أ. وجودها	لأن عدم تكون الجلطة ناتج عن إتمام الفبرينوجين حيث يظهر سطح الخلايا الحمراء معقويا.

<p>يقل حجم الجلطة الدموية بمسبب نقص تركيز الفيبرينوجين أو عدم كفايته حيث تظهر الجلطة عالقة بسطح المصل أو مغسولة في الخلايا الحمراء.</p> <p>لأن شحوب اللون الأحمر في جزئها العلوي بالمقارنة مع جزئها السفلي ناتج عن زيادة زمن التجلط.</p> <p>لأن عدم ضمورها ناتج عن نقص عدد الصفائح الدموية أو عدم كفايتها أو بسبب وجود جلوبولين غير طبيعي أو بسبب إحصار الدم.</p>	<p>ب. حجمها</p> <p>ج. تجانس لونها</p> <p>د. مدى ضمورها</p>	
<p>يتميز سطح الجلطة الدموية الطبيعية بأنه أملس ويتأكل بسبب تحلل خيوط الفيبرين عند زيادة سرعة تحول البرامينوجين إلى بلازمين.</p> <p>تتميز الجلطة الطبيعية بأنها خافة (يسقط منها قطرة أو قطرتين مصل) ومتماسكة (تحتفظ بشكلها إذ وضعت فوق سطح صلب وتتخذ شكل الوعاء) أما الجلطة غير الطبيعية فتكون رطبة وغير متماسكة وعلى شكل حبة الكمثر.</p>	<p>٦. إنترع الجلطة الدموية من الأنبوب المخروطي ولاحظ ما يلي: أ. طبيعة سطحها.</p> <p>ب. شكلها.</p>	
<p>لحساب النسبة المئوية لحجم الخلايا الحمراء خارج الجلطة ($> 50\%$ طبيعي) وحجم المصل خارج</p>	<p>٧. عرض ما تبقى من عينة الدم للطرد المركزي بسرعة ٣٠٠٠ د/د لمدة ٣ دقائق.</p>	

<p>الجلطة (> ٤٠% طبيعي) وحجم المصل داخلها (> ٢٠% طبيعي) والذي يمكن حسابه بالمعادلة التالية:</p>		
<p>حجم المصل داخل الجلطة % = حجم الجلطة % - (مكدس الدم % - حجم خلايا الحمراء خارج الجلطة %)</p>	<p>٨. تظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.</p>	<p>استعدادا لإعادة التجربة وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.</p>

الكفاية العملية - ١١٩ -

قياس نتائج تحليل الفيبرين

Fibrin Split (Degradation) Products = FSP = FDP= D-Dimer

الهدف :

أن يكون الطالب قادراً على قياس تركيز نتائج تحليل الفيبرين التي تعيق تجلط الدم وبالتالي زيادة زمنه.

المبدأ :

يضاف الثرومبين الى عينة الدم للتأكد من اكتمال التجلط وتضاف مبطلات انزيمات الصويا لمنع تحليل الفيبرين. يخفف مصمل المريض بعد الحضانة ويمزج مع حبيبات لاتيكس بجينينات مكسوة بالأجسام المضادة لنتائج تحليل الفيبرين يشير تكتل حبيبات اللاتيكس الى وجود نتائج تحليل الفيبرين وبشكل طردي. يدل وجود كميات كبيرة من نتائج تحليل الفيبرين على عدم سلامة الكلى والكبد وعلى زيادة تنشيط البلازمينوجين الى بلازمين.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- أنابيب مزودة بالثرومبين (توفرها • قطارات.
- الشركات الصانعة).
- محلول منظم الجلوتين بالمحلول • عيدان خشبية
- الملحي (pH ٨,٢).
- معلق لاتيكس مكسوا بالأجسام • أنابيب اختبار ١١ × ١١ ملم
- المضادة لنتائج تحليل الفيبرين.
- شرائح مصلية. • عينات مرجعية إيجابية وسلبية

الرقم	الخطوات	المعدات
١.	أضع ٢ ملل من الدم في أنبوبة جمع العينات المزودة من قبل الشركات الصانعة وقلبها بلطف وضعها في حمام مائي بدرجة ٣٧° لمدة ٢٠ دقيقة.	لإذابة الثيرومبين ومبطلات انزيمات فول الصويا لتسريع اكتمال التجلط وللمنع تحليل الفيبرين.
٢.	عرض محتويات الأنبوبة للطررد المركزي بسرعة ٣٠٠٠ د/د لمدة ٥ دقائق.	لفصل المصل عن الجلطة الدموية.
٣.	إستخدام أنبوبتين يمزجتين بالنسب ١/١٠ و ١/٥ لكل عينة وأمزج من	للحصول على عينة مصلى مخففة بنسبة ١/٥.

	المميزة بنسبة ١/٥ ٠,٠٨ مليلتر محلول منظم جلايسين مع ٠,٢ مليلتر مصبل المريض.	
٤.	أمزج في الأنبوبة المميزة بالنسبة ١/١٠، ٠,٥ ملل من محلول منظم الجلايسين مع ٠,٥ ملل من الخليط الموجود في الأنبوبة المميزة بالنسبة ١/٥.	للحصول على عينة مصبل مخففة بنسبة ١/١٠.
٥.	ضع قطرة من المصبل المخفف من كل من الأنابيب ومن العينة المرجعية في حلقة أو تجويف شريحة معلقة واضف الى كل منها قطرة من معلق حبيبات اللاتيكس وأمزجها بعود خشبي أو بلاستيكي.	لتوفير فرصة التفاعل المصلي بين نتائج تحليل الفيرين المتوقع وجودها في العينات وإجسامها المضادة المثبتة في مطح حبيبات اللاتيكس.
٦.	اكتشف عن وجود تكتل لحبيبات اللاتيكس بعد قلب محتويات الشريحة لمدة دقيقتين.	لاستنتاج مدى توفر نتائج تحلل الفيرين بشكل تقريبي إذ يشير ظهور التكتل في الأنبوب المميز بالنسبة ١/٥ إلى أن تركيز نتائج تحلل الفيرين تقدر بـ ١٠-٢٠ ميكغم/ملل ويشير ظهور التكتل في الأنبوب المميز بالنسبة ١/١٠ إلى أن تركيز نتائج تحليل الفيرين تزيد عن ٢٠ ميكغم/ملل. علما أن القيم الطبيعية تتراوح بين ٨-١٠ ميكغم/ملل.
٧.	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد التي أماكن حفظها.	تمهيدا لإجراء التجربة مرة أخرى عند الحاجة وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية - ١٢٠ -

فحص السائل المنوي

Seminal Fluid Examination

الهدف :

أن يكون الطالب قادراً على إجراء فحص شامل للسائل المنوي للكشف على ما هو غير طبيعي في خصائصه الفيزيائية والحيوية لاستبعاد مساهمته في عدم الإنجاب واستبعاد تعرض مصلاؤه الحيوية (الخصيتين، الحويصلات المنوية والبروستات وغدد لستر وكوبر) لأي من العوامل المرضية.

المبدأ :

يفضل جمع السائل المنوي في المختبر كي يتم البدء بشكل مباشر في إجراءات الفحص الشامل عليه بعد توقف لمدة ٣ أيام عن الإتصال الجنسي.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- حاويات نظيفة وجافة سعتها حوالي ٢٠ ملتر وقحها مناسبة (< ٥ سم).
- شرائح زجاجية.
- أغطية للشرائح الزجاجية.
- شريحة نوبر المحسنة لعد الخلايا.
- محلول اليفير Alevaire (محلول المخاط).
- محلول ٥% كربونات الصوديوم و ١% فورمالين.
- ماصات توما لعد الخلايا.

الوقت	الخطوات	الملاحظات
١.	زود المريض بالحاوية النظيفة الجافة وأطلب منه أن يجمع سائله المنوي في محيط المختبر بالإستمناء اليدوي أو الألي.	كي تبدأ في إجراءات الفحص العياني مباشرة بعد جمع العينة.
٢.	لاحظ لون وقوام ورائحة العينة خلال نصف ساعة من جمعها وتأكد مما يلي: أ. تجلط العينة مباشرة بعد القذف. ب. الزمن اللازم لتحلل الجلطة	كي نتأكد من توفر خصائصها الطبيعية والتي تتمثل بأن السائل المنوي الطازج شديد اللزوجة وغير شفاف ويتجلط

<p>مباشرة بعد القذف ويتميع خلال ١٠ - ٢٠ دقيقة.</p> <p>لأن عدم تجلط العينة يشير إلى خلل أو عدم وجود الحويصلات المنوية المسؤولة عن توفير الفيرينوجين.</p>	<p>ويجب التفريق بين شدة للزوجة والتأخير في تحلل الجلطة.</p> <p>ج. شفافية العينة.</p>	
<p>يقدّر حجم المسائل المنوي الطبيعي بـ ١,٥ - ٥,٥ ملل ولوحظ بشكل غير متوقع زيادة الحجم بشكل محسوس عند الذكور غير القادرين على الإخصاب.</p>	<p>قم بقياس حجم المسائل المنوي في مخبر مدرج سعته ١٠ ملل نظيف وجاف.</p>	٣.
<p>لإيقاف نشاط الحيوانات المنوية وحركتها بالفورمالين وإتقاص كثافتها لمنع تراكمها فوق بعضها أثناء العد.</p>	<p>استخدم ماصات توما الخاصة بعد الخلايا البيضاء لتخفيف العينة بمحلول كربونات الصوديوم والفورمالين بنسبة ١:٢٠ مباشرة بعد حضنها.</p>	٤.
<p>للسماح باستقرار الحيوانات المنوية على سطح شريحة العد واستخدام العدد الناتج في حساب عدد الحيوانات المنوية في كل ملل كما يلي:</p> <p>$4W \times 5000$</p> <p>يقدّر عدد الحيوانات المنوية بـ ٦٠ - ١٥٠ مليون/ملل ويعتبر أمراً غير طبيعياً نقص العدد عن ٢٠ مليون/ملل.</p>	<p>قم بعد الحيوانات المنوية الموجودة في ما مساحته ٠,٤ ملم^٢ (4W) من شريحة نوبلر بعد دقيقتين من شحن جارات العد بالعينة المخففة.</p>	٥.
<p>تمهيداً لدراسة نشاط الحيوانات المنوية الممثل بحركتها ولتحديد عمق قياسي ثابت لعينة المسائل المنوي.</p>	<p>ضع قطرة من المسائل المنوي بعد تميعه على غطاء شريحة يحيط بحوافها طبقة متجانسة من الفازلين وأضغط فوقها بشكل أفقي شريحة زجاجية نظيفة وجافة بدرجة حرارة الجسم.</p>	٦.
<p>لمتابعة نشاطها على فترات زمنية متلاحقة حيث تزيد</p>	<p>راقب حركة حوالي ٢٠٠ حيوان منوي موزعة في عدة حقول</p>	٧.

<p>تمسبة الحيوانات المنوية النشيطة بعد ساعة من القذف عن ٨٠% وبعد ٣ ساعات عن ٦٠% ويقل النشاط بنسبة ٥٠%/الساعة بعد ٤ ساعات من القذف.</p>	<p>مجهريية بالعدسة الشبكية ٤٠ بعد ساعة من القذف وبعد ٣ ساعات و٤ ساعات.</p>	
<p>لأن حركتها غير موضعية (تنتقل من موقع الى آخر). لأن حركتها موضعية حول نفسها. لأنها لا تتحرك نهائيا.</p>	<p>صنف الحيوانات المنوية في مرة بناء على طبيعة حركتها الى ما يلي: أ. حيوانات منوية نشيطة Active. ب. كسولة Sluggish ج. ميتة Dead</p>	<p>٨.</p>
<p>لاستبعاد الالتهابات والأورام.</p>	<p>تأكد من عدم وجود خلايا صديدية وخلايا طلائية بشكل غير طبيعي.</p>	<p>٩.</p>
<p>للتعرف على أشكال الحيوانات المنوية الطبيعية وغير الطبيعية.</p>	<p>يستخدم العدسة الزيتية في مشاهدة أشكال الحيوانات المنوية في شريحة محضرة ومصبوغة بنفس خطوات ومواد تحضير شرائح الدم المصبوغة.</p>	<p>١٠.</p>
<p>لأن رؤسها مخروطية مدببة ومبسطة وبشكل طولها ٢٥% من طول الحيوان المنوي وطول الذيل ٥٠% والعنق ٢٥%. تزيد النسيبة المنوية للحيوانات المنوية الطبيعية في أشكالها عن ٧٠% من حيوانات السائل المنوي الطبيعي. لأنها قد تكون ثنائية الرأس أو الذيل أو قد تكون رؤوسها كروية أو غير مميزة الشكل أو عملاقة أو</p>	<p>صنف الحيوانات المنوية بعد مشاربتها في الشريحة المصبوغة الى ما يلي: أ. طبيعية. ب. غير طبيعية.</p>	<p>١١.</p>

<p>قد تكون ذيولها طويلة أو قصيرة.</p>		
<p>استعدادا لفحص عينات أخرى وللحفاظ على نظافة الموقع وسلامة البيئة.</p>	<p>نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها بعد فصل التيار الكهربائي عن المجهز.</p>	<p>١٢.</p>

الكفاية العملية - ١٢١ -

الفحص الكامل لسائل النخاع الشوكي

Cerebrospinal Fluid (CSF) Examination

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على إجراء فحص مخبري شامل لعينة سائل النخاع الشوكي وعلى تحليل ما قد تسببه الحالات المرضية المختلفة من تغيير في خصائصه الفيزيائية والكيميائية والحيوية.

المبدأ :

نظرا لما قد يتعرض له المريض من معاناة ومضاعفات خطيرة عند جمع عينة CSF، فيجب عدم اللجوء إلى فحصه مخبريا إلا في حالة الضرورة القصوى كما يجب الحرص على فحصه مخبريا بشكل شامل من كافة الوجوه الفيزيائية والكيميائية والحيوية والخلوية والمصلية لإستبعاد أية عوامل مرضية محتملة.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- جهاز تحليل طيفي.
- حاضنة كهربائية.
- شرائح زجاجية وأغطيتها.
- سلك حقن بلاستيكي Wireloop
- صبغة واييت أو لبشمان.
- محلول ٧% فينول
- الأدوات اللازمة لعد الخلايا البيضاء.
- المواد الخاصة بصبغة جرام وبصيغة ذيل نيلسون.
- ماصات أوتوماتيكية وماصات زجاجية.
- محلول ٣٣% حامض الاستنيك مضاف إليه قطرتين من أزرق الميثيلين أو مشتقاته.
- مجموعة المحاليل اللازمة لقياس الجلوز والكلور في المصل.
- أنابيب اختبار ١١٠ × ١٠ ملم وأنابيب طرد مركزي.
- مجموعة المحاليل والأدوات اللازمة للكشف عن السفلي.
- أوساط غذائية مناسبة
- حاويات نظيفة وجافة.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	وفر للطبيب حاويات نظيفة وجافة ومعقمة قبل الشروع في جمع سائل النخاع الشوكي.	لتوزيع العينة في ثلاث حاويات تمثل أجزاء العينة من حيث خروج السائل الأول والأوسط والأخير.
٢.	تفحص أجزاء العينة الثلاث بالعين المجردة وتأكد من : أ. الشفافية ودرجة التعكير. ب. لون سائل النخاع الشوكي بعد جمعه مباشرة. ج. ظهور جلطة الفيبرين. د. تأكد من توزيع الخلايا الحمراء في حالة وجودها في الحاويات الثلاث.	للتعرف على لون وقوام سائل النخاع الشوكي في الحاويات الثلاث يشبه الماء الصافي عندما يكون طبيعياً. يظهر سائل النخاع الشوكي العكر باللون الأحمر بسبب الخلايا الحمراء وأبيض كريمي بسبب الخلايا البيضاء أو الجراثيم ومائل للزرقة أو الأخضرار بسبب المكورات السبحية. ويظهر السائل الصافي باللون الأصفر الفاتح بسبب اليرقان وباللون الأصفر الباهت بسبب زيادة تركيز البروتين. بسبب وجود الفيبرينوجين وزيادة تركيزه نتيجة تهتك الشعيرات الدموية أثناء جمعه أو بسبب التهاب السحايا أو انسداد مجرى السائل. تتساوى نسبة الخلايا الحمراء في الحاويات الثلاثة عندما يكون سببها النزيف في مجرى السائل وليس تهتك الشعيرات أثناء جمع العينة حيث يظهر الطافي عديم اللون.

٣.	عرض جزءا من العينة من إحدى الحاويات للطررد المركزي.	لفصل الجلطة وما تحتويه من خلايا أو جراثيم عن السائل الطافي الذي يستخدم في التجارب الكيميائية.
٤.	حضر لطفة جرثومية أخرى من الراسب وأصبغها بصبغة جرام.	للتعرف على طبيعة الجراثيم أو الفطريات أو الطفيليات في الرواسب.
٥.	حضر لطفة جرثومية أخرى من الراسب وأصبغها بصبغة زيل نيلسون عند مشاهدة عصيات غير مميزة بصبغة جرام.	لإستبعاد جرثومة السل من الرواسب.
٦.	أزرع عينة سائل النخاع الشوكي على الوسط وفي الظروف التي تناسب طبيعة الجراثيم التي يمكن مشاهدتها باللطخات الجرثومية.	للتأكد من طبيعة الجراثيم المميزة في اللطخات.
٧.	أملأ ماصة توما الخاصة بالخلايا البيضاء حتى العلامة ١ بمحلول التخفيف ٣٠% حامض الاسيتيك الملون بصبغة المثولين الزرقاء ومن ثم أكمل ملئ الماصة بعينة سائل النخاع الشوكي بعد مزجها جيدا حتى العلامة ١١.	للتخلص من الخلايا الحمراء في حالة وجودها وإبراز نواة الخلايا البيضاء.
٨.	قم بملئ حجرات العد في شريحة نوبر على الجانبين بمحلول العينة كما في حالة عد الخلايا الدموية.	لعد الخلايا البيضاء التي تظهر في ما مساحته ١٨ ملم ^٢ (18W) وحساب النتيجة باستخدام المعادلة التالية عدد الخلايا البيضاء/ملم ^٢ = عددها في ١٨ ملم ^٢ × ٩/٥.
٩.	إستخدم طريقة قياس تركيز الجلوكوز في المصل أو البلازما المستخدمة في قياس تركيز الجلوكوز في سائل النخاع الشوكي مع ضرورة مضاعفة حجم العينة عن حجم عينة المصل مرتين أو أكثر وأخذ ذلك بالإعتبار عند عملية الحساب.	لأن تركيز جلوكوز سائل النخاع الشوكي الطبيعي يعادل ٢/٣ تركيزه في المصل (٧٠ ملغم/دل في حالة الصيام) ويقبل بشكل محسوس أو يكاد أن يتعبد في الإلتهابات الجرثومية للسحايا ويبقى طبيعيا في التهابات السحايا الأخرى مع زيادة عدد الخلايا البيضاء.
١٠.	أسقط قطرة من الطافي الصافي	للكشف عن وجود

٢	لمسائل النخاع الشوكي في حوالي ٧% فينول. ملل محلول	الجلوبولين الذي يستدل عليه بظهور تكبير في مسار ال قطرة وبشكل طردي.
١١.	استخدم تجربة باندي Pandy لقياس تركيز بروتين مسائل النخاع الشوكي بالتعكير.	لأن تركيز البروتين في مسائل النخاع الشوكي الطبيعي أقل بشكل محسوس من بروتينات المصل ويعادل ١٥-٥٠ ملغم/دل ويزيد بشكل معتدل (>٥٠٠ ملغم/دل) في حالة التهاب المحيايا وأمراض النظام العصبي وبشكل محسوس في حالات الخرف أو انسداد مجرى مسائل النخاع الشوكي (٥٠٠ - ١٠٠٠ ملغم/دل).
١٢.	استخدم تجربة قياس كلور في المصل في قياس تركيز الكلور في مسائل النخاع الشوكي.	لأن تركيز الكلور الطبيعي يعادل ١١٨ - ١٢٢ ممول/لتر ويقل في حالة التهاب المحيايا بسبب نفائتها ونقص تركيزه في البلازما.
١٣.	قم بفحص VDRL أو Khan أو بدائلها على الطافي الصافي لعينة مسائل النخاع الشوكي في حالة زيادة عدد الخلايا البيضاء وعدم ظهور الحبيبات المتعادلة.	لإستبعاد مرض الزهري.
١٤.	نظف الأدوات والأجهزة المستخدمة ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.	إستعدادا لإجراء التجربة مرة أخرى وللحفاظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية - ١٢٢ -

فحص السوائل المصلية

Serous Fluids Examination

الهدف :

أن يكون الطالب قادراً على الكشف على السوائل المصلية والتي تتجمع في الأغشية حول الأعضاء الداخلية وتشمل مسوائل الأغشية المحيطة بالرنات Pleural fluids والقلب Pericardial fluids والأمعاء Peritoneal fluids وسوائل الأديما Ascitic fluids والتفريق بين الإتهابية Exudates وغير التهابية Transudates.

المبدأ :

نظراً لما قد يتعرض له المريض من معاناة ومضاعفات خطيرة عند جمع عينة السوائل المصلية فيجب عدم اللجوء الى الكشف عنها مخبرياً إلا في حالة الضرورة القصوى وكما يجب الحرص على فحصها بشكل كامل من كافة الوجوه الفيزيائية والكيميائية والحيوية للتفريق بين السوائل الالتهابية وغير الالتهابية التي تنشأ بسبب زيادة الضغط الأسموزي والمائي داخل الشعيرات الدموية الخاصة بجدران الفراغات الداخلية.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- جهاز تحليل طيفي.
- مجهر مزود بعنسات شينية ١٠. ٤٠. ١٠٠.
- أدوات عد الخلايا الدموية.
- ماصات أوتوماتيكية وزجاجية.
- صبغة رايت أوليشمان.
- سلك حقن بلاتين Wire Loop
- مواد الخاصة بصبغة جرام وزيل نيلسون وبابنيكولو Papanicolou
- حامض الاسيتيك مركز.
- ١٠% هيدروكسيد الصوديوم.
- مجموعات محاليل الخاصة بقياس تركيز كل من الجلوكوز والبروتين
- وقياس نشاط أنزيمات LDH والأميليز.
- أنابيب اختبار ١١٠ × ١٠ ملم وأنابيب طرد مركزي.
- موقد لهب بنسون.
- مخبر مدرج سعة ١٠٠ مللتر.
- شرانخ زجاجية وأعطيتها.
- جهاز طرد مركزي.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	وفر للطبيب حاويتين نظيفتين ومعقمتين في إحداها عدة نقط محلول ٣,٨% متترات الصوديوم.	لجمع ٢ مللتر من السائل المصلي في كل منها حيث يستخدم أحدها في التعرف على وجود الفيبرينوجين.

<p>٢. لتتعرف على لون وقوام العينة حيث تظهر صافية وبلون التبن الجاف عندما تكون طبيعية.</p> <p>تتكرر السمائل المصلية الالتهابية بسبب ما قد تحتويه من خلايا حمراء أو بيضاء أو طلائية أو خيوط الفيرين في حين تبقى السمائل غير الالتهابية صافية بلون التبن الجاف.</p> <p>يساهم لون العينة في معرفة سبب تجمعها وطبيعة الرواسب فيها، تكون العينة حمراء بسبب الخلايا الحمراء أو صفراء بسبب البليسيروبين الناتج عن تفرحات الكيس الصفراوي أو الإثنا عشر أو التهاب البنكرياس وقد تكون حليبية بسبب زيادة الشحوم عند انعدام القنوات الصفراوية أو بسبب الخلايا الطلائية أو الصديدية.</p> <p>تظهر جلطة الفيرين في حالة وجود الفيرينوجين الذي يميز السمائل الالتهابية عن غير الالتهابية.</p>	<p>تفحص عينة السمائل المصل بالعين المجردة وتأكد من :</p> <p>أ. الشفافية ودرجة التعكير.</p> <p>ب. اللون</p> <p>ج. ظهور جلطة الفيرين في العينة الخالية من مانع التجلط.</p>	<p>٢.</p>
<p>لقياس حجم السمائل المصلي الذي لا يزيد عن ١ ملل في الحالة الطبيعية.</p>	<p>أسكب عينة السمائل المصلي المجموعة في مخبر مدرج مسعة ١٠٠ ملل.</p>	<p>٣.</p>
<p>لأنها ستفقد تمكيزها وتصبح صافية بعد المزج من هيدروكسيد الصوديوم إذا كانت الشحوم سبب التعكير.</p>	<p>أضف عدة نقط من ١٠% محلول هيدروكسيد الصوديوم إلى جزء من العينة إذا كان مستحلبة المظهر.</p>	<p>٤.</p>

٥.	قم بقياس الرقم الهيدروجيني للعينة (pH).	لان الرقم الهيدروجيني للمائل المصلي الطبيعي يقدر بحوالي ٧,٤ وتزيد الحامضية (>٧.٢) نتيجة تسرب عصير المعدة عند تقرح جدارها والتهاب الغشاء المبطن للرنات أو الالتهاب السلي أو تجمع صديدي في الفراغات الداخلية وتقل الحامضية (<٧,٥) بسبب وجود أورام.
٦.	عرض جزءا من العينة بعد مزجها للطرد المركزي في أنابيب طرد مركزي نظيفة ومعقمة بسرعة ٣٠٠٠ د/د لمدة ٥ دقائق.	لترسيب الأجسام الخلية لاستخدامها في الفحص الجرثومي والخلوي والحصول على الطافي الصافي لاستخدامه في الفحوصات.
٧.	قم بقياس تركيز الجلوكوز والبروتين ونشاط LDH والأميلاز في الطافي الصافي من المائل المصلي بنفس الطرق الخاصة بعينات المصل والبلازما.	لان تركيز السروتين في المائل المصلي والطبيعي يعادل ١ - ٢ غم /دل ويزيد عن ٣ غم /دل في الموائل الالتهابية ويبقى تركيز جلوكوز الموائل غير الالتهابية مساويا لتركيزه في الدم ويقل في الموائل الالتهابية الجرثومية أو الروماتيزمية أو وجود أورام سرطانية كما يزيد نشاط LDA والمساوئل المضللية بسبب الأورام السرطانية العنقية والمتشيه ويزيد عن ٥٥٠ وحدة في الموائل الالتهابية في حين يقل عن ٥٥٠ وحدة في غير الالتهابية.
٨.	استخدم قطارة مغسولة بحامض الخل مركز وشبه جافة في ملء حجرات شريحة عد الخلايا بجزء	لعد الخلايا البيضاء الموجودة على سطح ١٨ ملم ٢ (18w) بحيث تستخدم

	من العينة بعد حقنها مباشرة على الجائين.	التالية في حساب عددها في كل ملم ³ عددها/ملم ³ = عددها في ١٨ ملم ³ × ٥/٩ يزيد عددها عن ١٠٠٠/ملم ³ في السوائل الالتهابية.
٩.	حضر لطخة جرثومية من رواسب المسائل المصلي واصبغها بصبغة جوام.	للتعرف على طبيعة الجراثيم الموجودة في العينة.
١٠.	حضر لطخة جرثومية أخرى من رواسب العينة واصبغها بصبغة زيل نيلسون عند مشاهدة عصيات جرثومية غير مميزة بصبغة جرام.	لاستبعاد جرثومة المل.
١١.	حضر شريحة من رواسب العينة بنفس طريقة تحضير طبقة الدم واصبغها بصبغة رايت أو ليشمان.	للتعرف على نوعية الخلايا الموجودة في العينة إذ تزيد الخلايا الصديدية في الالتهابات الجرثومية الحادة والخلايا الليمفاوية في الالتهابات الفيروسية والمل والجرثومية المزمنة والأمراض الليمفاوية المتشعبة كما تزيد المحببات الحامضية بسبب الحساسية وتزيد الخلايا الطلائية بسبب الأورام السرطانية.
١٢.	حضر لطخة جرثومية واصبغها بصبغة Papanicoloue وخاصة عند مشاهدة زيادة محسومة في الخلايا الطلائية.	لاستبعاد الخلايا السرطانية.
١٣.	أفضل التيار الكهربائي عن الأجهزة ونظف المجاهر والأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد التي أماكن حفظها.	استعدادا لتنفيذ تجارب جديدة والمحافظة على نظافة الموقع وسلام البيئة.

الكفاية العملية - ١٢٣ -

تحضير صبغات رومانوسكي (رايت وليشمان وجيمزا) لشرائح الدم

Preparation Of Romanowsky Stains (Wright, Leisman and Giemza)

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على تحضير أي من صبغات رومانوسكي (رايت، وليشمان، وجيمزا) المستخدمة في صبغ شرائح الدم لتمييز الخلايا الدموية عن بعضها.

المبدأ :

تستخدم أي من صبغات رومانوسكي المكونة من خليط من صبغة الميثيلين الأزرق (Methylene Blue) القاعدية لصبغ النواة والأجزاء القاعدية من السيتوبلازم وصبغة الأيوسين (Eosin) لصبغ بعض أجزاء السيتوبلازم. تختلف صبغات رومانوسكي عن بعضها بنسب مكونات الخليط إلى بعضها وبطريقة تحضيرها. تحضر محاليل صبغات رومانوسكي عادة بالكحول الميثيلي كمذيب ومثبت أو بالجليسرول كمذيب.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- مسحوق صبغة رومانوسكي (جيمزا، ليشمان، رايت)
- ورق مخروطي سعته ٢٥٠ ملل أو ورق قياس سعة ٥٠٠ ملل.
- هاون
- جليسرول
- قمع علدي
- ورق ترشيح - زجاجية بنية اللون - حاضنة كهربائية

أ. تحضير صبغة رايت وليشمان

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	أملا ورق قياس سعة ٥٠٠ ملل بالكحول الميثيلي الخالي من الأسيتون	لاستخدامه في إذابة الصبغة
٢.	قم بوزن ٠.٩ غم مسحوق صبغة رايت أوليشمان.	لاذابتها في ٥٠٠ ملل كحول ميثيل.
٣.	ضع مسحوق الصبغة الموزون في الخطوة السابقة في هاون	للمساعدة على اشباع الكحول بالصبغة.

	ولسحقه في حوالي ٧٠-١٠٠ ملل من الكحول الميثيلي.	
٤.	اسمح بترويق مسحوق الصبغة في قاعدة الهاون خلال ١٠-٥ دقائق ونقل الطافي الصافي الى زجاجات بنية اللون ومحكمة الإغلاق لحفظها.	لفصل الطافي الصافي عن مسحوق الصبغة المتبقى.
٥.	أعد محق بقاءا الصبغة بحوالي ٧٠-١٠٠ ملل كحول ميثيلي والترويق عدة مرات حتى استنفاد ٥٠٠ ملل كحول.	لاستكمال إذابة كمية الصبغة الموزونة في الهاون ونقلها الى زجاجة الحفظ.
٦.	قم بخض محلول الصبغة يوميا لمدة ٣ أسابيع.	لإذابة أكبر جزء ممكن من مسحوق الصبغة المترسب.
٧.	قم بترشيح الصبغة قبيل استخدامها.	للتخلص من مسحوق الصبغة الفائض عن اشباع الميثانول وبالتالي منع روسوبه فوق شريحة الدم.
٨.	أحفظ الصبغة بعيدا عن الأحماض والقلويات.	لمنع تأثر مكوناتها ببخار الأحماض أو القلويات.
٩.	استخدم محلول الصبغة مباشرة بدون تثبيت شريحة الدم.	بسبب استخدام الميثانول في تحضير محلول الصبغة وهو الذي يقوم بدور المثبت.
١٠.	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد المستخدمة الى أماكن حفظها.	تمهيدا لاستخدامها في تحضير المزيد محلول صبغة راتب وللحفاظ على نظافة المكان وسلامة البيئة.

ب. تحضير صبغة جيمزا

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	أمزج جيدا ١ غم مسحوق صبغة جيمزا مع ٦٦ ملل جليسر في ورق مخروطي مسطحة ٢٥٠ ملل.	لإذابة مسحوق الصبغة في الجليسرين.
٢.	ضع محلول الصبغة الناتج من الخطوة السابقة في حاضنة كهربائية بدرجة ٥٠ لمدة ساعتين.	للعمل على اشباع الجليسرين بصبغة جيمزا.

٣.	أضف الى المحلول ٦٦ ملل ميثانول خالي من الامينون.	للمساعدة على إذابة مسحوق الصبغة وتثبيت شريحة الدم على شريحة الزجاج.
٤.	أحفظ الصبغة بدرجة حرارة الغرفة لمدة أسبوع.	للسماح بترويق الفائض من مسحوق الصبغة عن الإشباع.
٥.	أنقل الطافي الصافي الى زجاجة بنية اللون.	لفصل المحلول المشبع عن الفائض المسحوق وحفظها.
٦.	قم بترشيح محلول الصبغة قبل استخدامها.	للتخلص من مسحوق الصبغة الفائض عن اشباع المذيب.
٧.	أحفظ محلول الصبغة بعيدا عن الأحماض والقلويات.	لمنع تآثر مكونات الصبغة ببخار الأحماض أو القلويات.
٨.	أستخدم محلول الصبغة مخففا بالماء المقطر ٥-١٠ مرات بعد تثبيت شريحة الدم بالميثانول.	لتجنب ترسيب الصبغة على الشريحة الدم ولتدني تركيز الميثانول في المحلول المخفف.
٩.	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.	تمهيدا لتحضير المزيد من محلول الصبغة وللحفاظ على نظافة المكان وسلامة البيئة.

الكفالية العملية - ١٢٤ -

تحضير صبغات الخلايا الشبكية

Brilliant Cresyl Blue أو New Methylene Blue صبغات

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على تحضير محلول لصبغ الخلايا الشبكية وتمييزها عن بقية الخلايا الدموية.

المبدأ :

تخضر صبغات الخلايا الشبكية بإذابة مسحوقها في سترات المحلول الملحي وتعمل على ترسيب جزيئات RNA المكونة لسلسلة الخيوط المتشابكة التي تميز الخلايا الشبكية عن بقية الخلايا الحمراء.

الأدوات والمواد اللازمة :

• مسحوق صبغة Brilliant Cresyl Blue أو New Methylene Blue

• محلول ملحي فسيولوجي (N.S)

• محلول ٣% سترات الصوديوم

• دوايق مخروطية سعة ٢٥٠ ملل

• مخبر مدرج سعة ١٠٠ ملل.

• قمع ترشيح

• ورق ترشيح

• حاوية سعة ١٠٠ ملل بسداد محكم.

المرات	الخطوات	الرقم
١. تحضير ١٠٠ ملل من المذيب المناسب للصبغة.	أخلط في مخبر مدرج سعة ١٠٠ ملل ٢٠ ملل من محلول ٣% سترات الصوديوم مع ٨٠ ملل من المحلول الملحي.	١.
٢. تحضير محلول مشبع من صبغة الخلايا الشبكية.	أمزج بشكل جيد ١ غم من مسحوق الصبغة مع ١٠٠ ملل من المذيب المحضر في الخطوة السابقة في دورق مخروطي سعة ٢٥٠ ملل.	٢.
٣. لفصل الفائض من مسحوق الصبغة عن محلولها المشبع ومنع ترسيبها على الشريحة الدم.	قم بترشيح محلول الصبغة الناتج واحفظ الراشح في زجاجة سعتها ١٠٠ ملل.	٣.
٤. تمهيدا لتحضير محلول الصبغة عند الحاجة وللحفاظ على نظافة الموقع وسلامة البيئة.	نظف المكان والأدوات وضع الأدوات والمواد المستخدمة في أماكن حفظها.	٤.

الفصل السادس

بنك الدم

Blood Bank

الكفاية العملية - ١٢٥ -

إختيار المتبرع بالدم وفحصه

الهدف :

أن يكون الطالب قادراً على اكتساب ثقة المتبرعين واختيار المناسب منهم للتبرع بالدم أو أي من مكوناته بحيث يوفر حاجات الفئة المستهدفة لخدمة بنك الدم بدون أن يتعرض لأيّة مضاعفات صحية سالبة نتيجة تبرعه.

المبدأ :

تعتبر اللياقة الصحية للمتبرع وسلامته وتوفير حاجة المريض من الدم أو أي من مكوناته أسس جميع الإجراءات المتخذة في عملية اختيار المتبرع.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- جهاز قياس ضغط الدم
- ميزان ومسطرة قياس الطول
- صبغة رايت أو ليشمان
- مواد VDRL
- الأدوات والمواد اللازمة لقياس الهيموجلوبين أو الهيماتوكريت أو محاليل كبريتات التهامس بكثافات نوعية ١.٠٤٥ و ١.٠٥٥ لإستبعاد فقر الدم.
- الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة للكشف عن فيروسات نقص المناعة المكتسبة والتسهاب الكبد الفيروسي وتضخم الخلايا (CMV) واليرقان.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	تحلى بالصبر والبشاشة ومسحة الصدر عند استقبال المتبرعين	لاكتساب ثقتهم وتعزيز قرار التبرع بالدم وخاصة لأول مرة.
٢.	في بطاقة المتبرع دون المعلومات التالية: اسم المتبرع ورقمه المتسلسل عنوانه ورقم تليفونه. عمره ومهنته التاريخ وتاريخ آخر تبرع التاريخ المرضي للمتبرع وعائلته	لتوثيقها في السجلات والرجوع إليها أو الإتصال به عند الحاجة.
٣.	قم بقياس وزن المتبرع وطوله	لأنه يجب أن يكون هناك تناسب بين طول المتبرع ووزنه بحيث لا يقل الوزن عن ٥٠ كغم والطول عن ١٥٠ سم.

٤.	قم بقياس ضغط دم المتبرع ونبضه.	لاستبعاد التبرع بالدم بشكل مؤقت إذا تبين وجود الإضطراب في ضغط دم المتبرع.
٥.	قم بقياس تركيز الهيموجلوبين أو الهيماتوكريت في دم المتبرع.	لاستبعاد التبرع بالدم بشكل مؤقت إذا تبين أن المتبرع يعاني من فقر دم عندما تكون النتائج كما يلي هيموجلوبين أقل من ١٣,٥ غم ذكور وأقل من ١٢,٥ غم إناث. هيماتوكريت أقل من ٤١% ذكور وأقل من ٣٨% إناث.
٦.	قم بالكشف عن وجود فيروسات نقص المناعة المكتسبة والتهاب الكبد الفيروسي و CMV واليرقان في دم المتبرع.	لاستبعاد من تكون نتائج عيناتهم لهذه الفيروسات ايجابية بشكل دائم واستبعاد مخالطتهم بشكل مؤقت من التبرع بالدم.
٧.	أصبغ شريحة دم بصبغة رايت أو ليشمان وتحري عن وجود طفيل الملاريا (في المناطق الموبوءة بشكل أساسي).	لاستبعاد التبرع بالدم بشكل مؤقت (حتى الشفاء) في حالة وجود طفيل الملاريا في دمه.
٨.	قم بإجراء وتجربة VDRL على دم المريض	لاستبعاد المتبرع الذي قد يعاني من السفلس بشكل مؤقت.
٩.	قم بالكشف عن الزمرة الدموية للمريض بناءً على نظام ARO ونظام Rh-Hr.	لنقل دمه إلى المرضى الذين تتطابق مجموعاتهم الدموية مع دمه تجنباً لحدوث مضاعفات.
١٠.	حول المتبرع إلى الطبيب لإجراء الفحص السريري.	للتأكد من لياقته الصحية بشكل عام وبالتالي قدرته على التبرع بالدم لتوثيقها في السجلات والرجوع إليها عند الحاجة.
١١.	دون معلومات جميع الإجراءات السابقة في بطاقة المتبرع قبل الشروع في سحب دمه.	لتوثيقها في السجلات والرجوع إليها عند الحاجة.
١٢.	وقع على صحة جميع المعلومات المدونة في الاستمارة.	لتحمل المسؤوليات عند الحاجة.

١٣.	نظف الأجهزة والأدوات اللازمة لإجراء الخطوات ٥ - ٩ ومواقع إجراءاتها وأعد المواد والأدوات إلى أماكن حفظها.	استعداد لتنفيذ تجارب جديدة وللحفاظ على نظافة الموقع وسلامة البيئة.
-----	--	--

ملاحظة: يمكن إجراء الخطوات ٦-٧-٨ على عينات من دم المتبرعين بعد سحب وحدة الدم.

الكفافية العملية - ١٢٦ -

سحب الدم من المتبرعين والتعامل مع ردود أفعالهم

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على سحب وحدات الدم من المتبرعين وتوثيقها في السجلات بعد أن يكون قد ثبتت على حقائبها الرقم المتسلسل للمتبرع ومجموعته الدموية والتاريخ وأن يكون قادرا على التعامل بشكل صحي ومليح مع كافة المضاعفات التي قد يتعرض لها المتبرع أثناء سحب الدم أو بعده مباشرة.

المبدأ :

يكلف فني متمرس بسحب الدم من المتبرعين وخاصة صغار السن منهم أو في حالة أول تبرع للدم بعد توفير كافة وسائل الراحة النفسية والبدنية في مكان جيد الإضاءة والتهوية.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- سرير مناسب لإستلقاء المتبرع
- عليه أثناء سحب الدم.
- قطن مبسل بالكحول
- حقائب مناسبة لجمع الدم
- مزودة بأجهزة سحب الدم.
- بطاقات حقائب جمع الدم
- اللاصقة بالوان تناسب مختلف المجموعات الدموية.
- أنابيب إختبار زجاجية ١٠×١١٠
- أنابيب إختبار زجاجية
- قاطع كهربائي للأنابيب البلاستيكية
- جهاز مزج وحدات الدم
- عصير فواكه

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	استقبل المتبرع بعد ملئ بطاقةه بالمعلومات اللازمة ببساطة وصدر رحب.	لغرس الثقة في نفسه وتعزيز رغبته في التبرع.
٢.	قم بقراءة كافة المعلومات المدونة في بطاقة المتبرع.	للتأكد من إستكمالها ومن اللياقة الصحية للمتبرع.
٣.	قم بإختبار حقيقة الدم المناسبة بعد التأكد من صلاحية وثبت عليها بطاقة لاصقة بلون يناسب	لأنه يتم اختار الحقيقة أحادية الحجرات عند الحاجة للدم كاملا ومتعددة

<p>الحجرات عند الحاجة لفصل مكونات الدم عن بعضها تستخدم بطاقات الحقائق في التعرف عليها.</p>	<p>المجموعة الدموية للمتبرع مدون عليها الرقم المتسلسل للمتبرع وتاريخ السحب حيث يختص اللون الأصفر بـ A والأخضر بـ B والأزرق بـ AB والأحمر بـ O واللون الغامق بـ Rh+ve والباهت بـ Rh-ve.</p>
<p>لتوفير الراحة النفسية والبدنية للمتبرع وخاصة صغير السن أو أول تبرع بالدم ولتجنب بعض المضاعفات المحتملة عن طريق توفير أكبر كمية من الدم للدماغ.</p>	<p>٤. أطلب ببساطة وهدوء من المتبرع الاستلقاء فوق سرير التبرع بحيث يكون مستوى قدميه أعلى من مستوى رأسه.</p>
<p>للسماح بمليء الحقيبة بالدم ومزجه بشكل تدريجي ولأنه يجب استبعاد التبرع من مخملي المخدرات.</p>	<p>٥. ضع حقيبة الدم فوق جهاز مزج الدم وقم بإحداث الإختراق الوريدي داخل المرفق بعيدا عن مواقع تليف الجلد أو تقرحه بعد التأكد من عدم وجود آثار أير متكررة في الذراع.</p>
<p>للتأكد من بقائها في موقعها وتسريع تدفق الدم إلى الحقيبة وإتخاذ الإجراءات المناسبة في حالة معاناة المتبرع لأيّة مضاعفات أثناء وبعد التبرع مباشرة.</p>	<p>٦. أنزع الحزام الضاغط عن ذراع المتبرع بعد تثبيت الإبرة في موقعها بواسطة شريط لاصق وراقب المتبرع أثناء عملية التبرع.</p>
<p>لتوفير أكبر كمية من الدم للدماغ لمعالجة تعرض المتبرع للتباطؤ في دقات القلب والغثاس وفقدان الوعي.</p> <p>لوقاية المتبرع من قطع أسنانه وللحفاظ على سلامة السوائل والكمية من الدم للدماغ لمعالجة التباطؤ في دقات</p>	<p>٧. توقف عن سحب الدم من المتبرع وقم باتخاذ أي من الإجراءات التالية عند تعرض المتبرع لأيّة مضاعفات:</p> <p>أ. ارفع مستوى قدمي المتبرع عن مستوى رأسه وضع كمادات ماء بارد على جبهته المتبرع.</p> <p>ب. ضع قطعة من الشاش بين أسنان المتبرع وثبت اللسان بواسطة طاقه بعد أن يستلقي على ظهره ورفع مستوى قدميه عن مستوى ظهره.</p>

<p>القلب والتشنج بسبب ضحول النظام العصبي المركزي وققدان الوعي. لانقاص التهوية في حالة تعرض المتبرع للقلق وتصلب عضلات الأطراف.</p> <p>لمعالجة فقدان الوعي إذا استمر أكثر من نصف ساعة أو إذا كانت أي من المضاعفات السابقة شديدة وحادة.</p>	<p>ج. ضمع قناعاً ورقياً على أنف المتبرع.</p> <p>د. استدع الطبيب وقم بإجراءات التنفس الصناعي وتليك القلب.</p>	
<p>توثيقها والرجوع إليها عند الحاجة.</p>	<p>دون جميع مضاعفات التبرع والإجراءات المنجزة لمعالجتها في بطاقة المتبرع ومن ثم سجل المتبرعين</p>	<p>٨.</p>
<p>لمنع النزف والنزف بعد اكتمال عملية التبرع.</p>	<p>إسحب الإبرة من ذراع المتبرع بعد امتلاء الحقبة بالدم وثبت قطنة أو قطعة شاش مبللة بالكحول فوق موقع الاختراق بشرط لاصق.</p>	<p>٩.</p>
<p>تجنباً لتعرضه للغثاسان أو الدوار في حالة وقوفه بعد التبرع مباشرة.</p>	<p>أطلب من المتبرع البقاء مستقيماً على ظهره خمسة دقائق بعد التبرع بالدم.</p>	<p>١٠.</p>
<p>تعويض حجم الدم المفقود أثناء التبرع.</p>	<p>زود المتبرع بعبوة عصير فواكه ودعه يشربها وهو مستلق على ظهره.</p>	<p>١١.</p>
<p>لتقيد بسببها لتجنب مضاعفات نشاطاته المهنية.</p>	<p>زود المتبرع بالوثائق والتعليمات المناسبة.</p>	<p>١٢.</p>
<p>لتحصول على عينة من دم المتبرع للفحوص المخبرية اللاحقة VDRL AIDS التهاب كبد ... نسخ.</p>	<p>أملاً أنبوبية ١٠x١١٠ ملم بأند من حقبة الدم قبل إغلاقها.</p>	<p>١٣.</p>
<p>لاستخدام محتويات أي جزء منها في عمليات موافقة دم المتبرع مع مريض قبل نقل الدم.</p>	<p>اقسم أنبوبية البلاستيك الخاصة بجهاز سحب الدم إلى أجزاء طول الواحد منها ١٠ - ١٥ سم باستخدام القاطع الكهربائي أو ربط عقد في الأنبوب البلاستيكي.</p>	<p>١٤.</p>

فصل مكونات الدم عن بعضها

Hemopheresis

الهدف :

أن يكون الطالب قادراً على فصل مكونات الدم (الخلايا الحمراء والبيضاء والصفائح والبلازما والراسب البارد) عن بعضها باستخدام قوى الطرد المركزي والحقائب متعددة الحجرات.

المبدأ :

تفصل مكونات الدم عن بعضها كي يستفيد أكبر عدد ممكن من المرضى من وحدة الدم كل حسب حاجته ولوقايتهم من مضاعفات حصولهم على مكونات الدم عن بعضها خلال ٤ ساعات من سحب الدم التي لا يحتاجونها، يستخدم الطرد التدريجي للكثافة والحقائب متعددة الحجرات لفصل مكونات الدم.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- مجمد كهربائي بدرجة حرارة تقل عن ٣٠° تحت الصفر.
- ثلاجة حفظ الدم بدرجة ٤ - ٨°
- حجرة فصل المكونات معقمة بالأشعة فوق البنفسجية.
- مكبس خاص.
- حقائب متعددة الحجرات.
- قاطع كهربائي لإقفال الأنابيب البلاستيكية وقطعها.
- أجهزة طرد مركزي بجيوب سعة ١ لتر ومزودة بالإضافة الى ساعة التوقيت ومنظم السرعات ومنظم لتثبيت درجة الحرارة.

الرقم	الخطوات	المهمات
١.	أ سحب دم المتبرع في الحجرة الرئيسية لحقيبة متعددة الحجرات بعد تثبيت رقم المتبرع ومجموعته الدموية والتاريخ على جميع الحجرات.	لتوزيع مكونات الدم على الحجرات المختلفة دون تعرضها للتلوث ولتحديد هوية المتبرع ومجموعته الدموية وعمر الدم.
٢.	عرض الحقيبة متعددة الحجرات بعد سحب الدم في الحجرة الرئيسية للطرد المركزي بسرعة ٥٠٠٠ ج/د لمدة ٥ دقائق بعد موازنتها بما يعادل وزنها في الجيب المقابل بأقرص مطاطية.	لترسيب الخلايا الحمراء والحصول على طافي البلازما الغني بالخلايا البيضاء والصفائح الدموية.

٣.	في حجرة الأمعة فوق البنفسجية أضغط بالمكبس المناسب الحجرية الرئيسية بدون خلط محتوياتها بعد فتح الطريق إلى الحجرية المجاورة.	لنقل البلازما الغنية بالخلايا البيضاء والصفائح إلى الحجرية المجاورة في جو كامل التعقيم.
٤.	أفضل الحجرية الرئيسية التي تحتوي على الخلايا الحمراء المكسدة باستخدام القاطع الكهربائي.	لإعطائها بعد تعليقها فيما يعادل حجمها من المحلول الملحي للمرضى الذي يعانون من فقر دم أو حساسية للخلايا البيضاء.
٥.	عرض حجرة البلازما الغنية بالخلايا البيضاء والصفائح الدموية مع بقية الحجرات للطررد بمركز المركزي بسرعة ٥٠٠٠ ج/د لمدة ٧ دقائق بعد موازنتها في الجيب المقابل بأقراص مطاطية.	لترسيب الخلايا البيضاء وفصلها عن البلازما الغنية بالصفائح الدموية.
٦.	نفذ الخطوة رقم ٣.	لنقل البلازما الغنية بالصفائح إلى الحجرية المجاورة.
٧.	أفضل الحجرية التي تحتوي على راسب الخلايا البيضاء عن بقية الحجرات باستخدام القاطع الكهربائي	لإعطائها لمن يعاني من نقص في عدد الخلايا البيضاء المحببة بمعدل ١٠ خلية / يوم لمدة ٥ أيام.
٨.	عرض حجرة البلازما الغنية بالصفائح الدموية مع بقية الحجرات للطررد المركزي بسرعة ٣٠٠٠ ج/د لمدة ٢٥ دقيقة بدرجة حرارة الغرفة بعد موازنتها في الجيب المقابل بأقراص مطاطية.	لترسيب الصفائح الدموية وفصلها عن البلازما الطازجة.
٩.	أفضل الحجرية التي تحتوي على راسب الصفائح الدموية عن الحجرية التي تحتوي على البلازما الطازجة باستخدام القاطع الكهربائي.	لإعطاء الصفائح الدموية بعد تجميعها لمن يعاني من نقصها وحفظ البلازما الطازجة مجمدة (FFP) بدرجة ٣٠ م تحت الصفر لمدة عام.
١٠.	ضع حقيبة البلازما الطازجة المجمدة في درجة ٤° م (ثلاجة بنك الدم) لمدة ١٨ ساعات.	لتميع مكوناتها باستثناء الراسب البارد الغني بالعامل الثامن.
١١.	عرض حجرة البلازما الطازجة	لترسيب الراسب البارد

المجمدة الممبعة بدرجة ٤° للطررد المركزي بسرعة ٢٥٠٠ د/د لمدة ١٥ دقيقة بعد موازنتها فيما يعادل وزنها بالأقراص المطاطية.	وفصله عن بقية البلازما.
١٢. نفذ الخطوة رقم ٣.	لنقل البلازما الخالية من الراسب البارد الى الحجرة المجاورة.
١٣. فصل حجرة الراسب البارد عن حجرة البلازما الخالية من الراسب البارد.	لإعطاء الراسب البارد وبعد تجميعه لمن يعاني من نقص عامل التجلط رقم ٨ واعطاء البلازما لمن يعاني في نقص حجم الدم كأنحروق...).

الكفاية العملية - ١٢٨ -

الكشف عن المجموعة الدموية في نظام ABO بالطريقة المباشرة

باستخدام الشرائح الزجاجية او انابيب الاختبار

Direct ABO blood grouping

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على الكشف عن المجموعة الدموية في نظام ABO بالطريقة المباشرة.

المبدأ :

تتفاعل الأجسام المضادة Anti-A و Anti-B - itn مع خلايا حطمية في تدوجوملا اهنناجيتنا مع الحمراء في المحلول الملحي وتكتلها بشكل قوي بحيث يشاهد التكتل بالعين المجردة دون الحاجة للطرء المركزي والمجهر لأنها أجسام مضادة طبيعية وكاملة (IgM) وتتوزع انتيجيناتها في جدران الخلايا الحمراء على هيئة مجموعات سطحية.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- امصال تحتوي على Anti-A وامصال تحتوي على Anti-B .
- شرائح زجاجية او انابيب اختبار ١٠×١٠ ملم
- عيدان خشبية
- قطارات
- اقلام تعليم (ومم)

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	امزج قطرة من دم المريض او محلول ٢٠% خلايا حمراء مع قطرة مصل Anti A في انبوب ١٠×١٠ ملم مميز بالحرف A او على نصف سطح شريحة زجاجية مميز بالحرف A وامزج قطرة اخرى من الدم او محلول الخلايا الحمراء مع قطرة من مصل Anti B في انبوب ١٠×١٠ ملم مميز بالحرف B او النصف الاخر من سطح الشريحة المميزة بالحرف B في درجة حرارة الغرفة.	لاتاحة الفرصة لحدوث تفاعل مصلي بين الانتيجينات A و B المتوقع وجودها في سطح الخلايا الحمراء مع اجسامها المضادة.

<p>٢. اكتشف بالعين المجردة عن امكانية حدوث التكتل في الانبويتين او في نصفي الشريحة.</p> <p>للتعرف على امكانية حدوث تفاعل مصلي بين انتيجينات الخلايا الحمراء واجسامها المضادة وبالتالي المجموعة الدموية للمريض التي قد تكون كما يلي:</p> <ul style="list-style-type: none"> • A اذا حدث التكتل في الانبواب A او نصف الشريحة A. • B اذا حدث التكتل في الانبواب B او نصف الشريحة B. • AB اذا حدث التكتل في الانبويتين اوفي نصفي الشريحة. • O اذا لم يحدث التكتل في الانبويتين اوفي نصفي الشريحة. 		
<p>٣. نظف الادوات الزجاجية واعد الامصال الى الثلاجة ونظف الموقع.</p> <p>تمهيدا لاعادة التجربة على عينات اخرى وللحفاظ على نظافة الموقع وسلامة البيئة.</p>		

الكفالية العملية - ١٢٩ -

الكشف عن المجموعة الدموية في نظام ABO بالطريقة غير المباشرة.

Indirect or Reverse ABO blood grouping

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على الكشف عن المجموعة الدموية في عينات المصل او البلازما.

المبدأ :

تتميز الأجسام المضادة Anti-A و Anti-B امزلاجية رطبة تجميطة متضام ماسجا اهنام الانسان في حالة غياب انتيجيناتها) وباردة وكاملة لذا تستخدم محاليل الخلايا الحمراء A و B في الكشف عن وجودها في امصال المرضى وبالتالي معرفة مجموعاتهم الدموية في نظام ABO.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- ٢٠% محلول خلايا حمراء من المجموعة الدموية B في المحلول الملحي.
- ٢٠% محلول خلايا حمراء من المجموعة الدموية A في المحلول الملحي بحيث يحضر من خمسة اشخاص A
- انابيب اختبار ١٠×١٠ ملم نظيفة وجافة.
- قطارات

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	امزج قطرتين من بلازما او مصل المريض مع قطرة من محلول ٢٠% خلايا حمراء A في الانبوب المميز بالحرف A و قطرتين من بلازما او مصل المريض مع قطرة من محلول ٢٠% خلايا حمراء B في الانبوب المميز بالحرف B.	لاتاحة الفرصة لحدوث تفاعل مصلي بين الاجسام المضادة الموجودة في بلازما او مصل المريض مع الانتيجينات A و B الموجودة في الخلايا الحمراء المضافة لها.
٢.	ابحث عن حدوث تكتل في الانبوتين بالعين المجردة .	لتعرف على حدوث تفاعل مصلي وبالتالي المجموعة

<p>الدموية للمريض والتي تكون كما يلي:</p> <ul style="list-style-type: none"> • A اذا حدث التفاعل في الاثيوب -B. • B اذا حدث التفاعل في الاثيوب -A. • AB اذا لم يحدث تفاعل مصلي في الاثيويتين. • O اذا حدث تفاعل مصلي في الاثيويتين. 		
<p>تمهيدا لاعادة التجربة على عينات اخرى وللحفاظ على نظافة الموقع وسلامة البيئة.</p>	<p>نظف الادوات الزجاجية والموقع واعد محلول الخلايا الحمراء الي التلاجة.</p>	<p>٣.</p>

الكفالية العملية - ١٣٠ -

تصنيف عينات الدم بـ Rh+ve و Rh-ve بالكشف عن الانتجين Rh(D)

الطبيعي و Rhu (Du) الضعيف

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على الكشف عن الانتجينات Rh(D) و Rhu (Du) في سطح الخلايا الحمراء.

المبدأ :

يضيف الدم بـ Rh +ve في حالة وجود أي من الانتجينات في جدران الخلايا الحمراء، وبـ Rh-ve في حالة غياب عن هذه الانتجينات. يجب عدم استبعاد تكتل الخلايا الحمراء عند الكشف عن هذه الانتجينات إلا بعد الاستعانة بالطرد المركزي والمجهر على التوالي لأنها تنتشر مبعثرة في عمق جدران الخلايا الحمراء ولأن أجسامها المضادة غير كاملة ودافئة وغير طبيعية.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- أنابيب اختبار ١٠×١١ ملم
- حمام مائي بدرجة ٣٧°م.
- نظيفة وجافة.
- قطرات زجاجية
- محلول ملحي فسيولوجي (N.S)
- شرائح زجاجية واغطيته.
- مجهر مزود بعدسات ثنائية ١٠ و ٤٠
- جهاز طرد مركزي.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	لمزج قطرة من دم المريض مع قطرتين من المصل الذي يحتوي على الأجسام المضادة Anti Rh (D) وضعها في حمام مائي بدرجة ٣٧°م لنصف ساعة.	لاتاحة الفرصة لتفاعل الاجسام المضادة Anti Rh(D) التي تتميز بأنها غير كاملة ودافئة للتفاعل مع الانتجين الموجود في سطح الخلايا الحمراء.
٢.	اكشف عن حدوث تكتل للخلايا الحمراء داخل الاتيوب مستعينا بالطرد المركزي والمجهر.	لمساعدة الخلايا الحمراء على التكتل ورؤية التكتل الضعيف في حالة وجوده لأن التفاعل المصلي الخاص بـ Rh ينتجين Rh ضعيف مقارنة بتفاعل انتجينات A,B

٣.	صنف الدم Rh+ve عند رؤية التكتل وصنفه بشكل مبني Rh-ve عند عدم رؤية التكتل وقم بغسل الخلايا الحمراء الموجودة في الأنبوب ثلاث مرات بالمحلول الملحي.	للتخلص من أي أثر للبلازما ومصل Anti Rh الذي استخدم في الخطوة الأولى تمهيدا للكشف عن Rhu(Du) الضعيف.
٤.	امزج قطرة من مصل كومب (AHG) مع الخلايا الحمراء التي تم غسلها بالمحلول الملحي في الخطوة السابقة.	لربط بين الأجسام المضادة AntiRh المرتبطة بالانتيجينات Rhu الضعيفة في حالة وجودها في سطح الخلايا الحمراء والمساعدة على تكتلها.
٥.	اكتشف عن حدوث تكتل للخلايا الحمراء مستعينا بالطرد المركزي والمجهر.	تتعرف على امكانية وجود الانتيجين Rhu(Du) الضعيف.
٦.	صنف الدم Rhu(Du) في حالة تكتل الخلايا الحمراء في الخطوة السابقة و Rh-ve بشكل مؤكد في حالة عدم ظهور تكتل.	لأنه لا يجوز تصنيف الدم Rh-ve إلا بعد استبعاد الانتيجين الضعيف Rhu(Du).
٧.	نفذ جميع الخطوات السابقة على عينتي دم مرجعيتين مصنفات Rh+ve و Rh-ve.	لمقارنة توزيع خلاياهما في الخطوات المختلفة مع توزيع خلايا العينة.
٨.	افصل التيار الكهربائي عن المجهر والحمام المائي ونظف الأنابيب واعد الامصال الى التلاجة ونظف موقع العمل بعد اعتماد النتائج.	تمهيدا لاعادة التجربة على عينات اخرى عند الحاجة وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفافية العملية - ١٣١ -

الكشف عن أنتيجيات E و c و E و c في نظام Rh-Hr (Genotyping)

الهدف :

أن يكون الطالب قادراً على الكشف عن أنتيجينات E, C و c و لمعرفة ما إذا كانت العوامل الوراثية للأنتيجين D الخاص بالرجل المتزوج من امرأة مصنفة (Rh-ve) متجانسة DD أو غير متجانسة ولمعرفة مدى توفر فرص تعرض الأجنة لفقر الدم التحللي لحديثي الولادة (NBDH).

المبدأ :

نظراً لعدم وجود ما يشار له بالأنتيجين d وبالتالي عدم توفر أجسامه المضادة فيمكن تقرير تجانس أو عدم تجانس العوامل الوراثية للأنتيجين D من نتائج الكشف عن الإنتيجينات e, c, E, C بمساعدة الجداول الخاصة باحتمالية تجانس العوامل الوراثية للأنتيجين D (DD) أو عدم تجانسها (Dd) كما تستخدم نتائج الكشف عن الأنتيجينات e, c, E, C في دم الزوجين حتى لو كانتا Rh+ve و Rh-ve لاستبعاد أجسامها المضادة في حالة تحليل دم الجنين.

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- قطارات أو ملصات باستور (Pasteur).
- أنابيب اختبار مصلية ١١٠ × ١٠ ملم • حمام مائي بدرجة ٣٧°م
- أمصال الأجسام المضادة للأنتيجينات D, C⁺, E, c الخاصة بنظام Rh-Hr
- حوامل أنابيب اختبار ١٠ × ١١٠ مربعة ١٠ × ٥ = ٥٠
- معلقات خلايا حمراء مرجعية (بعضها يحمل الإنتيجينات والبعض الآخر خال منها).

الرقم	الخطوات	المجربات
١.	حضر معلق خلايا حمراء من عينة المريض وبتركيز ٢٠% بعد غسلها بالمحلول الملحي ثلاث مرات.	لمفاعلتها مع أمصال الأجسام المضادة للأنتيجينات D و C ⁺ و E و c و e.
٢.	ميز خمسة أنابيب ١١٠ × ١٠ ملم بالحروف D, C, E, c وضع في كل	إتاحة فرصة التفاعل بين الإنتيجينات المحتمل وجودها خلايا المريض مع الأجسام

منها قطرة مما يناسبها من إصصال الأجسام المضادة Anti e, Anti c, Anti E, Anti C, Anti D.	المضادة.
٣. أكشف عن حدوث تكتل للخلايا الحمراء داخل الأثاييب مستعينا بالطرد المركزي والمجهر.	لمساعدة الخلايا الحمراء على التكتل ومشاهدة التكتل الضعيف في حالة وجوده لأن تفاعل أنتيجينات نظام Rh-Hr ضعيفة بالمقارنة مع تفاعل إنتيجينات AB.
٤. قم بتنفيذ الخطوات ٢ و ٣ على مجموعة المعلقات المرجعية الموجبة والمالية في نفس وقت تنفيذها على معلق العينة.	للتأكد من صلاحية الأمصال المستخدمة.
٥. وفق بين نتائج التجربة السابقة وجدول امكانية تجانس العوامل الوراثية للأنتيجين D (DD) أو عدم تجانسها (Dd).	لأقرار النسبة المئوية لإحتمال تجانس الأنتيجين D أو عدم تجانسه وبالتالي مدى إمكانية تعرض دم الجنين لتحلل الدم.
٦. نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.	استعدادا لإجراء التجربة مرة أخرى وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية - ١٣٢ -

تحضير معلق (محلول) الخلايا الحمراء

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على تحضير محلول (معلق) الخلايا الحمراء بتركيز مختلفة لاستخدامها ككواشف مخبرية .

المبدأ :

تحضر معلقات الخلايا الحمراء بتركيز مختلفة بعد غسلها بـ محلول الملحي (NS) ثلاث مرات باستخدام الطرد المركزي وأنابيب طرد مركزي مدرجة.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- جهاز طرد مركزي
- أنابيب طرد مركزي مدرجة
- محلول ملحي فسيولوجي (N.S)
- قطارات او محاقن عند اللزوم.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	عرض عينة الدم المجموعة على مانع تجلط مناسب للطرد المركزي بسرعة ٢٠٠٠ د/د لمدة ٣ دقائق في أنابيب طرد مركزي مدرجة .	لفصل البلازما عن الخلايا الحمراء المكسدة.
٢.	افصل البلازما وأملأ الأنبوب الطرد المركزي بالمحلول الملحي وامزجه بالخلايا الحمراء المكسدة ومن ثم عرضه للطرد المركزي بسرعة ٢٠٠٠ د/د لمدة ثلاثية دقائق وتخلص من الطافي الصافي .	لتخلص مما تبقى من بلازما بين الخلايا الحمراء المكسدة.
٣.	اعد الخطوة رقم (٢) مرتين .	لضمان عدم بقاء أي أثر لبلازما او مكوناتها في أنبوب الطرد المركزي.
٤.	اضف السلي الخلايا الحمراء المكسدة محلول ملحي بالنسب التالية عند الحاجة وامزجه معها جيدا:	للحصول على محاليل الخلايا الحمراء بالنسب التالية:
	• تسعة اضعاف حجمها.	• للحصول على ١٠% محلول

<ul style="list-style-type: none"> • خلايا حمراء • للحصول على ٢٠% محلول خلايا حمراء. • للحصول على ٢٥% محلول خلايا حمراء. • للحصول على ٣٣,٣% محلول خلايا حمراء. • للحصول على ٥٠% محلول خلايا حمراء. 	<ul style="list-style-type: none"> • اربعة اضعاف حجمها. • ثلاثة اضعاف حجمها. • ضعف حجمها. • نفس حجمها . 	
<p>لحفظه واستخدامه عند الحاجة خلال أيام بدرجة ٤م .</p>	<p>انقل معلق الخلايا الحمراء إلى زجاجات مقلبة بقطارات .</p>	٥.
<p>استعدادا لتحضير معلقات خلايا حمراء أخرى والمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة .</p>	<p>نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد إلى أماكن حفظها.</p>	٦.

الكفاية العملية - ١٣٣ -

تحضير معلق الخلايا الليمفاوية بطريقة فيكول وهايباكو

(Ficoll-Hypaque)

الهدف :

أن يكون الطالب قادراً على تحضير معلق خلايا ليمفاوية لاستخدامه كعينات في الكشف عن أنتيجينات الخلايا البيضاء الأدمية (HLA) Human Leucocyte Antigens. التي تشكل أساس الموافقة النسيجية.

المبدأ :

تعتمد طريقة فيكول - هايباكو لفصل الخلايا الليمفاوية عن بقية عينة الدم بتعريضها للتدرج الطرد في الكثافة النوعية في محلول متركزوات الصوديوم Na-Metrizoate الذي كثافته النوعية ١,٠٧٧ حيث تكسب الخلايا الليمفاوية وخلايا وحيدات النواة على شكل قرص في سطح التماس بين الراسب من متركزوات الصوديوم في الأسفل والطافي في الأعلى. يتم التخلص من الخلايا البيضاء وحيدة النواة بواسطة التساقط مع السطوح الزجاجية بوجود مصلل الأنسان أو مصلل العجل الرضيع.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- جهاز طرد مركزي.
- أنابيب طرد مركزي
- محلول متركزوات الصوديوم كثافته النوعية ١,٠٧٧.
- ٢% بوفالين اليوميون في المحلول الملحي الخالي من الكالسيوم (محلول غسيل).

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	خفف عينة الدم المجموعة على هيبارين خالي من أية مواد حافظة بنسبة ٣:١ بمحلول ٢% بوفالين اليوميون في المحلول الملحي الخالي من الكالسيوم.	لتسهيل ترسيب الخلايا الحمراء والمحبات في أسفل الأنبوب.
٢.	أسكب عينة الدم المخففة في طبق زجاجي على هزاز واحتفظها بدرجة ٣٧°م ساعة.	للتخلص من الخلايا البيضاء أحادية النواة والصفائح الدموية التي تلتصق بالزجاج
٣.	أترك طبق بترى للزجاجي بدرجة حرارة الغرفة لمدة ١٠ دقائق ومن ثم أسكب العينة المخففة الحالية من الخلايا أحادية النواة فوق	- لفصل محتويات الأنبوب إلى الطبقات التالية من أسفل إلى أعلى حسب التساقص

<p>نصف حجمها من محلول ميتريزوات الصوديوم بدون خلطها وعرضها للطرد المركزي بقوة ٤٠٠ ج لمدة ٣٠ دقيقة وبدرجة حرارة الغرفة التي حضر فيها محلول ميتريزوات الصوديوم.</p>	<p>التدريج في كثافتها النوعية</p> <ul style="list-style-type: none"> - الخلايا الحمراء والمجبيات البيضاء. - محلول ميتريزوات الصوديوم. - قرص الخلايا الليمفاوية - البلازما المخففة.
<p>٤. اسحب قرص الخلايا الليمفاوية من سطح التماس بين البلازما المخففة وميتريزوات الصوديوم بواسطة ماصات باستور وضعه في أنبوب طرد مركزي.</p>	<p>لفصل الخلايا الليمفاوية والخلايا أحادية النواة عن بقية الطبقات لغسلها.</p>
<p>٥. ضع معلق الخلايا الليمفاوية بدرجة ٣٧°م لمدة ٢-٢٤ ساعة.</p>	<p>لتسهيل عملية تخلص الخلايا مما في سطوحها من جلوبيولين المناعة.</p>
<p>٦. اغسل الخلايا الليمفاوية ٣ مرات بمحلول البوفالين اليومي.</p>	<p>للتخلص بشكل كامل من آثار البلازما ومكوناتها.</p>
<p>٧. عدل حجم معلق الخلايا الليمفاوية بمحلول الغسيل.</p>	<p>للحصول على معلق عدد الخلايا الليمفاوية يساوي ٢ مليون/ملل.</p>
<p>٨. نظف الأدوات ومكان العمل وتعاد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.</p>	<p>إستعدادا لتحضير معلق الخلايا الليمفاوية من عينات دم أخرى.</p>

الكفاية العملية - ١٣٤ -

الكشف عن انتيجينات الخلايا البيضاء الادمة (HLA) بالطرق المصلية

Lymphocytotoxicity Test = LCT أو (Serologically Defied = SD)

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على الكشف عن وجود انتيجينات الخلايا البيضاء الادمة (HLA) في معلق الخلايا الليمفاوية كأساس لنظام التوافق النسيجي قبل عمليات نقل الأعضاء باستخدام الطرق المصلية (SD) التي تتميز بحساسيتها وفعاليتها.

المبدأ :

تتحسس الخلايا الليمفاوية الحية عند مفاعلتها مع الأجسام المضادة المناسبة لإنتيجينات الخلايا البيضاء التي تحملها. تفقد الخلايا الليمفاوية المتحسنة حياتها في حالة مفاعلتها مع المتمم. تستخدم الإضاءة الماطعة في المجهر العادي للتريق بين الخلايا الليمفاوية الحية والميتة التي تتميز عن الحية بامتصاصها للصبغات مثل الأيوسين (Eosin) أو تريبيان الزرقاء (Trypan Blue).

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- أطباق حجرات شفافة بسمعة ٦٠ عينة تحتوي على الأجسام المضاد لإنتيجينات (HLA) مغسورة بزيت اليرافين. تحفظ هذه الأطباق مجمدة بدرجة حرارة تقل عن ٧ تحت الصفر.
- معلق خلايا ليمفاوية بتركيز ١-٢ مليون /مل.
- مصف أرنب يحتوي على المتمم.
- ٥% محلول الأيوسين في الماء.
- مجهر مزود بالمعدسات الشبينية ١٠ و ٤٠ و ١٠٠.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	ضع أطباق أمصال الأجسام المضادة لإنتيجينات الخلايا البيضاء المجمدة بدرجة حرارة الغرفة.	لتيسيع الأمصال داخل الحجرات قبل استخدامها.
٢.	أضف إلى كل حجرة ٠.١ ملل من معلق الخلايا الليمفاوية الذي تركيزه بعد المزج ١٠٠٠-٢٠٠٠ خلية / ملل دون ملازمة سطح المصل وأترك الأطباق بعد مزج	للمعمل على تحسس الخلايا الليمفاوية عن طريق مفاعلة انتيجيناتها (HLA) مع أجسامها المضادة.

	محتويات الحجرات بدرجة حرارة الغرفة لمدة نصف ساعة.	
٣.	أضف إلى الخليط في كل حجرة ٠,٥ ملل من مصل متمم الأرنب وأحفظها بعد مزج محتويات الحجرات بشكل جيد في درجة حرارة الغرفة لمدة ساعة.	للعمل على قتل الخلايا الليمفاوية المتمسكة عن طريق ارتباط المتمم بالأجسام المضادة المثبتة على سطحها.
٤.	أضف إلى الخليط في كل حجرة ٠,٠٠٣ ملل محلول ٥% أيوسين بالماء وتبعها بعد مزج الخلط بدقيقتين بـ ٠,٠٠٨ ملل فورمالين وأمزج جيدا.	للسماح بتغلغل صبغة الأيوسين إلى داخل الخلايا الليمفاوية الميتة والتي تحمل أنتيجينات المصل المضاد.
٥.	أغلق الحجرات بغطائها الشفاف بشكل محكم.	كي نسمح بانتشار محتويات كل حجرة على شكل طبقة دقيقة متجانسة داخل الحجرات بعد قلب الأطباق بدون انسيابها خارجها.
٦.	تفحص بالمعبرة الشبكية ١٠ الخلايا الليمفاوية في جميع الحجرات باستخدام الضوء الساطع بسرعة ٤٠ حجرة في الدقيقة.	للتفريق بين الخلايا الليمفاوية الحية (صغيرة الحجم غير ملونة) والخلايا الليمفاوية الميتة (كبيرة الحجم ملونة).
٧.	أحسب النسبة المئوية للخلايا الميتة في كل حجرة.	لإستخدامها في كتابة النتيجة التي تعتمد كما يلي: - سلبية إذا كانت النسبة $> 20\%$. - مشكوك في إيجابيتها إذا كانت النسبة $20 - 40\%$. - إيجابية بشكل ضعيف إذا كانت النسبة $40 - 60\%$. - إيجابية مؤكدة بشكل ضعيف إذا كانت النسبة $60 - 80\%$. - إيجابية بشكل قوي إذا كانت النسبة $< 80\%$.
٨.	نظف الأدوات ومكان العمل وتخلص من الحجرات المستخدمة بطريقة صحيحة أعد الأدوات والمواد إلى أماكن حفظها.	إستعدادا للأجراء التجربة مرة أخرى وللحفاظ على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية - ١٣٥ -

الكشف عن انتيجينات الخلايا البيضاء الادمة (HLA) بالطريقة

الليمفاوية (LD) = Lymphocytically Defined أو

Mixed Leucocytic Culture (MLC)

الهدف :

أن يكون الطالب قادراً على الكشف عن انتيجينات خلايا البيضاء الادمة (HLA) في معلق الخلايا الليمفاوية كأساس نظام لتوافق منسجي باستخدام كواشف الخلايا الليمفاوية المنشطة.

المبدأ :

تتقسم الخلايا الليمفاوية ويزداد عددها بعد إثارة عنيفة لأنقسام عند حضانها في مزارع نسيجية مع خلايا ليمفاوية منشطة تحمل نفس انتيجينات (HLA). يعبر عن انقسام الخلايا الليمفاوية وتكاثرها في المزرعة النسيجية بمدى استهلاك الثايمدين Thymidine.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- أطباق مزارع نسيجية تحتوي الواحد منها على ٩٦ حجرة سعة ٣٠٠ - ٤٠٠ ميكسل. تحتوي كل حجرة على ٥٠ ميكسل من معلق خلايا ليمفاوية منشطة تحمل أحد انتيجينات (HLA) ومميزة بالميتوجين سي (Mitogen.C).
- وسط زراعة نسيجية.
- ثايمدين مشع (H_3 -Thymidine).
- مرشحات الصوف الصخري.
- محلول كولين المطبور بمحلول ٥% من مصفر العجل الرضيع.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	أضف ٥ ميكسل من معلق عينة الخلايا الليمفاوية (١٠٠٠ - ٢٠٠٠ خلية /مك) إلى محتويات كل حجرة من حجرات الطبق التي تحتوي على ٥ ميكسل من خلايا ليمفاوية لأحد الإنتيجينات HLA و امزج جيداً.	كي تقوم خلايا الليمفاوية المنشطة بتنشيط خلايا الليمفاوية الخاصة بالعينة والتي تشتبك معها بأي من انتيجينات HLA.
٢.	أضف إلى خليط الخلايا في كل حجرة ٢٠٠ ميكسل من وسط نسيجي وأخفظ الخليط بعد إقفال الحجرات بإحكام و مزج المحتويات بدرجة حرارة الغرفة لمدة ٥ - ٦ أيام	لإعطاء الفرصة لأنقسام الانقسامات الخلايا الليمفاوية في الوسط النسيجي.

٣.	أضف الى الخليط في كل حجرة ما يعادل حوالي ١-٢ ميكروكوري من الثايمدين المشع وأفضل الحجرات بإحكام واترك الخليط لمدة ٦ - ١٨ ساعة.	للسماح للخلايا الليمفاوية المنقسمة والخاصة بالعينة باستيعاب الثايمدين المشع.
٤.	اغسل خليط الخلايا الليمفاوية ٣ مرات بالكولين المطور على مرشحات من الصوف الصخري.	للتخلص من الثايمدين الحر.
٥.	قم بقياس الثايمدين المشع على الصوف الصخري بواسطة الجلامايمتر γ-Meter.	لمعرفة كمية الثايمدين المشع التي تم امتصاصها من قبل الخلايا الليمفاوية المنقسمة في العينة والتي تحمل نفس انتيجين معلق الكواشف الليمفاوية.
٦.	نظف الأدوات ومكان العمل وتخلص من الأطباق المستخدمة بطريقة صحية وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.	امتدادا لإجراء التجربة مرة أخرى وللحفاظ على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

تجربة كومب المباشرة Direct Coomb's Test

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على استخدام مصل AHG (كومب) في الكشف عن وجود الاجسام المضادة غير الكاملة في سطح الخلايا الحمراء.

المبدأ :

تعمل الأجسام المضادة لجاما جلوبيولين الانسان (AHG) على ارتباط أجسام المضادة الأدمية غير الكاملة المرتبطة مع انتيجيناتها في سطح الخلايا الحمراء وتكتلها في المحلول الملحي. تسمى بتجربة كومب المباشرة عندما يستخدم مصل كومب في الكشف عن الأجسام المضادة في سطح الخلايا الحمراء لعينة المريض وغير مباشرة عندما يستخدم مصل في الكشف عن وجود الأجسام المضادة في مصل المريض بعد مفاعلتها مع خلايا حمراء تحمل انتيجيناتها .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- انابيب اختبار ١٠×١٠ ملم نظيفة وجافة.
- محلول ملحي فيسيولوجي (N.S).
- مصل كومب (AHG).
- مجهر مزود بعصمات شينية ١٠ و ٤٠ قطرات
- شرائح زجاجية وغطيتها.
- جهاز طرد مركزي.

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	اغسل الخلايا الحمراء من عدة نقط من دم المريض بالمحلول الملحي ثلاث مرات.	للتخلص من جميع الأجسام المضادة وبقيّة جاما جلوبيولين الموجود في البلازما.
٢.	امزج قطرة من محلول ٢٠% خلايا حمراء مغمولة (بالخطوة السابقة) مع قطرتين من مصل كومب في انبوب طرد مركزي ١٠×١٠.	لاتاحة الفرصة لمصّل كومب بالتفاعل مع الاجسام المضادة غير الكاملة المتحدّة مع انتيجيناتها في الخلايا الحمراء وبالتالي تكتلها.
٣.	اكشف عن حدوث تكتل للخلايا الحمراء مستعينا بالطرد المركزي والمجهر.	لمساعدة مصل كومب في ربط الخلايا الحمراء مع بعضها وتمييز التكتل الذي قد يصرى بالعين المجردة.
٤.	اعتبر نتيجة التجربة ايجابية Positive Direct Coomb's Test	بسبب حدوث تكتل بعد اضافة مصل كومب لخلايا المريض الحمراء بعد غسلها.

٥.	نظف الأنابيب وفصل التيار عن المجهر واعد مصل كوسب الى الثلاجة ونظف الموقع.	تمهيدا لاعادة التجربة عند الحاجة والحفاظ على نظافة الموقع وسلامة البيئة .
----	--	---

الكفاية العملية - ١٣٧ -

تجربة كومب غير المباشرة (Indirect Coomb's Test) للكشف عن

الأجسام المضادة Anti Rh في مصل المريض

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على الكشف عن وجود الاجسام المضادة غير الكاملة لأي من انتيجينات الخلايا الحمراء (مثلا Rh (D) في مصل المريض باستخدام مصل كومب (AHG) .

المبدأ :

يتم الكشف عن وجود الأجسام المضادة غير الكاملة Anti- Rh (D) في إسهتوة من مصل الحوامل المصنفات بـ Rh-ve بمفاعلة امصالهن مع معلق خلايا حمراء O+ve ومفاعلة الخلايا الحمراء بعد غسلها ثلاث مرات بالمحلول الملحي مع مصل كومب : يعمل مصل كومب في حالة وجود الأجسام المضادة في مصل المريض على التفاعل مع ما ارتبط منها مع الانتيجين D في الخلايا الحمراء O+ve ويكتلها .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- ٢٠% محلول خلايا حمراء من المجموعة الدموية O تحمل الانتيجين Rh (O+ve)
- مصل كومب (AHG).
- قطارات زجاجية.
- محلول ملحي فسيولوجي (N.S) .
- حمام مائي بدرجة ٣٧°م.
- جهاز طرد مركزي.
- مجهر مزود بالمعدسات الشيئية ١٠ و ٤٠ و ١٠٠.
- انابيب طرد مركزي ١١٠ × ١٠ ملم نظيفة وجافة.
- شرائح زجاجية واغظيتها.

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	امزج قطرتين من مصل المريض المصنف Rh-ve مع قطرة من ٢٠% محلول خلايا حمراء O+ve في انبوب طرد مركزي ١٠×١٠ وضعها في	لاتاحة الفرصة لتفاعلات الاجسام المضادة الدافئة وغير الكاملة المحتمل وجودها في مصل المريض للتفاعل مع الانتيجين Rh الخاص بالخلايا

	حمام مائي بدرجة ٣٧م لمدة نصف ساعة على الأقل.	الحمراء O+ve .
٢.	اغسل الخلايا الحمراء بالمحلول الملحي ثلاث مرات في حالة عدم ملاحظة تكثف بعد الاستعانة بالمجهر والطرد المركزي.	لانه يندر تكثف الخلايا الحمراء في هذه الحالة لان الاجسام المضادة للانتيجين Rh غير كاملة وتفصل الخلايا الحمراء للتخلص من أي تأثير لجاماجلوبولين مصطل المريض.
٣.	امزج الخلايا الحمراء التي تم غسلها في الخطوة السابقة مع قطرة من مصطل كومب .	للمساعدة على ربط الاجسام المضادة المتحدة مع الانتيجين Rh في الخلايا الحمراء O+ve مع بعضها وبالتالي تكثف الخلايا الحمراء.
٤.	اكتشف عن حدوث تكثف للخلايا الحمراء مستعينا بالطرد المركزي والمجهر.	لمساعدة مصطل كومب على الربط بين الاجسام المضادة في سطح الخلايا الحمراء ولتمييز التكتل الضعيف الذي لا يرى بالعين المجردة .
٥.	اعتبر نتيجة تجربة كومب غير المباشرة ايجابية مما يؤكد وجود الاجسام المضادة Anti-D في مصطل الأمهات المصنفات بـ Rh-ve.	بسبب تكثف الخلايا الحمراء O+ve بعد اضافة مصطل كومب.
٦.	نظف الأدوات ومكان العمل واعد الأدوات والمواد إلى أماكن حفظها .	استعداد لاجراء التجربة مرة أخرى وللحفاظ على نظافة الموقع وسلامة البيئة .

الكفاية العملية - ١٣٨ -

تجربة الموافقة الكبرى والصغرى

Major & Minor crossmatching (Compatibility)

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على القيام بتجربة الموافقة الكبرى والصغرى بين دم المتبرع والمريض.

المبدأ :

تستخدم الموافقة الكبرى لاستبعاد أية أجسام مضادة غير متوقعة لانتيجينات الخلايا الحمراء الخاصة بالمتبرع من مصل المريض في حين تستخدم الموافقة الصغرى في استبعاد أية أجسام مضادة غير متوقعة لانتيجينات الخلايا الحمراء الخاصة بالمريض من مصل المتبرع.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- أنابيب طرد مركزي
- جهاز طرد مركزي
- ١١٠ × ١٠ ملم
- قطارات
- شرائح زجاجية واغطيتها
- حمام مائي بدرجة ٣٧ م
- محلول ملحي فسيولوجي (N.S)
- مصل كومب (AHG) والبوقاين
- البومين.

الوقت	الخطوات	الملاحظات
١.	عرض عينة دم المريض (P) والمتبرع (D) للطرد المركزي بسرعة ٢٠٠٠ د/د لمدة ثلاث دقائق.	لفصل الخلايا الحمراء لكل من المريض والمتبرع عن امصالها (او البلازما).
٢.	اغسل الخلايا الحمراء لكل من المريض (P) والمتبرع (D) بالمحلول الملحي ثلاث مرات وحضر محاليلها بتركيز ٢٠%.	لتخلص من أي أثر للبلازما او المصل الخاص بكل من المريض (P) والمتبرع (D).
٣.	امزج قطرتين من مصل المريض (P) مع قطرة من ٢٠% خلايا حمراء المتبرع (D) في الأنبوبية المميزة بالرقم (١) للموافقة الكبرى	لاتاحة الفرصة لأي نوع من الاجسام المضادة غير الكاملة يمكن ان يتواجد في المصل للتفاعل مع

	<p>وامزج قطرتين من مصل المتبرع (P) مع قطرة من ٢٠% خلايا حمراء المريض (P) في الانبوبة المميزة بالرقم (٢) للموافقة الصغرى.</p> <p>وضع الانابيب في حمام مائي بدرجة ٣٧م لمدة ساعتين على الأقل.</p>	<p>انتيجياته ان وجدت في الخلايا الحمراء.</p>
٤.	<p>اكتشف عن حدوث تكتل في الانبوتين مستعينا بالمجهر والطرد المركزي.</p>	<p>للتعرف على امكانية حدوث تفاعل مصلي بين اية اجسام مضادة كاملة في عينات المصل مع انتيجيناتها في الخلايا الحمراء.</p>
٥.	<p>اعسل الخلايا الحمراء في الانابيب (١) و(٢) بالمحلول الملحي ثلاث مرات في حالة عدم رؤية التكتل في الخطوة السابقة.</p>	<p>للتخلص من أي أثر للمصل والجاماجلوبولين الخاص بالمصل وغير مرتبط بالخلايا الحمراء.</p>
٦.	<p>امزج الخلايا الحمراء في الانبوتين بعد غسلها بالخطوة السابقة ب قطرة بوفالين اليومين واتبعها ب قطرة من مصل كومب واكتشف عن حدوث التكتل في الانبوتين مستعينا بالطرد المركزي والمجهر.</p>	<p>للمعمل على تقريب الخلايا الحمراء من بعضها عن طريق استبدال المحلول الملحي بالبوفالين اليومين وربط الاجسام المضادة غير الكاملة المرتبطة بسطح الخلايا الحمراء مع بعضها وبالتالي تكتلها بـ AHG.</p>
٧.	<p>اعتبر نتيجة التجربة ايجابية في حالة عدم ملاحظة أي تكتل للخلايا الحمراء في أي من الانبوتين (١) و(٢) وبالتالي يمكن صرف الدم للمريض.</p>	<p>بسبب عدم حدوث تفاعلات مصلية بين دم المريض ودم المتبرع.</p>
٨.	<p>نظف الانابيب والشرائح الزجاجية واقصص التيار عن المجهر والحمام المائي واعد مصل كومب والبوفالين اليومين الى التلاجة ونظف الموقع.</p>	<p>تمهيدا لاعادة التجربة عند الحاجة والمحافظة على نظافة المكان وسلامة البيئة.</p>

تجربة البانيل Panel Test

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على إجراء تجربة البانيل للكشف عن الأجسام المضادة غير المتوقعة والمسؤولة عن عدم التوافق المصلي بين دم المريض ودم المتبرع.

المبدأ :

يتم تحديد نوع الأجسام المضادة الموجودة في أي مصل بشكل مبدئي بأسلوب تجريبي يعتمد على الأنتيجين المشترك بين جميع أنواع الخلايا الحمراء التي نكتلها.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- أنابيب إختبار ٣٠% بوفايين البوميون.
- ١١.٠ × ١٠.٠ ملم.
- حمام مائي.
- عشرة معلقات لخلايا حمراء مختلفة معروفة أنتيجينات خلايا كل معلق.
- مصل كومب (AHG).
- ثلاجة.
- مجهر مزود بالمعدسات الشيئية ١٠ و ٤٠ و ١٠٠.

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	ميز ١١ أنبوبا ١١.٠ × ١٠.٠ ملم بالأرقام ١ - ١١.	لتخصيص كل أنبوب لمجموعة خلايا حمراء انتيجنتها معروفة والأنبوب الأخير لخلايا المريض الحمراء كأنبوب مرجعي.
٢.	أمزج في كل أنبوب قطرتين من مصل المريض و قطرتين من معلق ٢٠% خلايا المجموعة التي تطابقها في الرقم بشكل جيد وضع الأنابيب بدرجة ٤م لمدة ١٥ دقيقة وتأكد من حدوث التكتل مستعينا بالطرد المركزي والمجهر وسجل النتائج في عمود ٤م.	للكشف عن وجود الأجسام المضادة الباردة.

٣.	أحفظ الأنابيب بدرجة برودة (RT) لمدة ١٥ دقيقة وتأكد من حدوث التكتل مستعينا بالطرد المركزي والمجهر وسجل النتائج في العمود RT	للكشف عن وجود الأجسام المضادة شبيه الدافقة.
٤.	أمزج محتويات كل أنبوب مع قطرتين من محلول ٣٠ % بوفالين اليومين وأحفظها بدرجة حرارة ٣٧°م لمدة ٣٠ دقيقة وتأكد من حدوث تكتل مستعينا بالمجهر وبالطرد المركزي.	للتأكد من وجود الأجسام المضادة عبر الكاملة بمساعدة الألبومين.
٥.	اغسل الخلايا الحمراء في جميع الأنابيب ثلاث مرات ومن ثم تخلص من الطافي بعد اخر عملية غسل.	للتخلص من مصل المريض وكذلك البوفالين اليومين بشكل كامل.
٦.	أمزج قطرتين من مصل كومب (AHG) مع الخلايا الحمراء بشكل جيد وتأكد من حدوث التكتل مستعينا بالطرد المركزي والمجهر وسجل النتائج في العمود AHG.	للكشف عن وجود أجسام مضادة غير كاملة بمساعدة مصل كومب.
٧.	استمرض نتائج الخطوات السابقة بعد تكوينها في أعمدتها المخصصة ومن ثم أبحث على الانتجين المشترك بين جميع مجموعات التي تكتلت بمصل المريض.	لتحديد نوع الأجسام المضادة غير المتوقعة الموجودة في عينة المصل والمسؤولة عن عدم التوافق.
٨.	ضع قطرتين من مصل المريض في ستة أنابيب وأضف الى ثلاثة منها معلقات ثلاث مجموعات من الخلايا تحمل الانتجين الذي تم استنتاج وجوده بتجربة البانيل وأضف الى بقية الأنابيب معلق ثلاث مجموعات خلايا حمراء خالية منه وأمزج جيدا ووفر ظروف وقت الحضانة المناسب وتأكد من حدوث التكتل مستعينا بالطرد المركزي والمجهر.	للتأكد من صحة النتيجة في كل تجربة البانيل في حالة ظهور التكتل في الأنابيب الثلاثة الأولى وعدم ظهوره في الأنابيب الثلاثة الثانية.
٩.	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد السي أماكن حفظها.	استعدادا لإجراء التجربة مرة أخرى وللحفاظ على نظافة المكان وسلامة البيئة.

الكفافية العملية - ١٤٠-

حفظ محاليل (معلقات) الخلايا الحمراء مجمدة

الهدف :

أن يكون الطالب قادراً على حفظ محاليل الخلايا الحمراء مجمدة وإعادة استخدامها عند الحاجة ككواشف مخبرية عن الأجسام المضادة لإنتيجات الخلايا الحمراء بشكل عام والنادرة بشكل خاص.

المبدأ :

تخفظ الخلايا الحمراء مجمدة لفترة غير محددة بمساعدة الجليسرول أو (DMSO) كمادة مبطلة لتأثير التجميد والتميع على الخلايا الحمراء، يستخدم الجليسرول شديد التركيز (٤٠-٤٧%) لحفظ الخلايا الحمراء بالمجمدات الكهربائية بدرجة ٦٥ - ٨٥م تحت الصفر.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- محلول ملحي
- جليسرول
- منظم المسترات (١٩,٤ غم مسترات ثلاثية البوتاسيوم + ٣,٢ غم مشتقات أحادية الصوديوم + ٢,٩ مشتقات ثنائي الصوديوم / ٦٠٠ ملل ماء مقطر.
- محلول ٦٠% جليسرول (٦٠ ملل جليسرول + ٤ ملل منظم المسترات).
- محلول ٢٠% جليسرول (٢٠ ملل جليسرول + ٨٠ ملل منظم المسترات).
- محلول ١٦% جليسرول (١٦ ملل ٢٠% جليسرول + ٤ ملل منظم المسترات).
- محلول ٨% جليسرول (٨ ملل ٢٠% جليسرول + ١٢ ملل منظم المسترات).
- محلول ٤% جليسرول (٤ ملل ٢٠% جليسرول + ١٦ ملل منظم المسترات).
- محلول ٢% جليسرول (٢ ملل ٢٠% جليسرول + ١٨ ملل منظم المسترات).

ملاحظة: تحفظ محاليل الجليسرول (٢ - ٦٠%) مجمدة حتى تميع عند الحاجة الى استخدامها،

- جهاز طرد مركزي
- أنابيب طرد مركزي
- حاويات زجاجية صغيرة محكمة الإغلاق.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	اغسل الخلايا الحمراء بالمحلول الملحي (N.S) ثلاث مرات.	للتخلص من أية آثار للبلازما ومكوناتها.
٢.	امزج بشكل تدريجي وبطيء الخلايا الحمراء المكثفة مع حجم مساو من ٢٠% جليسيرول.	لإحلال الجليسيرول مكان المحلول الملحي كوسط حامل للخلايا الحمراء
٣.	امزج معلق الخلايا الحمراء في ٢٠% جليسيرول بشكل بطيء وتدرجي بحجم آخر مساو لحجم الخلايا الحمراء مكثفة مع محلول ٦٠% جليسيرول.	للحصول على معلق خلايا حمراء بتركيز ٣٣% في محلول ٤٠% جليسيرول.
٤.	وزع معلق الخلايا الحمراء المحضر في حاويات تحمل اسم الإنتيجينات الخاصة بها سعتها ١ ملل وبمعدل ٠,٥ ملل في كل حاوية وضع جميع الحاويات في حامل مناسب داخل مجمد كهربائي درجة حرارته أقل من ٣٠° تحت الصفر.	لحفظ الخلايا الحمراء مجمدة في المجمدات الكهربائية بشكل مستقل عن بقية محتوياتها حتى الحاجة لاستخدامها ولتجنب تحللها بسبب تكرار التجميد والتسييع.
٥.	ضع إحدى الحاويات في درجة حرارة الغرفة عند الحاجة لاستخدامها معلق الخلايا الحمراء ككاشف.	لرفع درجة حرارة المعلق المجمد وتسييعه.
٦.	عرض معلق الخلايا الحمراء بعد تسييعه للطرد المركزي بسرعة ١٢٠٠ د/د لمدة ٣ دقائق وتخلص من الطافي بواسطة ماصات باستور.	للتخلص من محلول ٤٠% جليسيرول.
٧.	امزج الخلايا الحمراء المكثفة مع حجم مساو من محلول ١٦% جليسيرول بشكل جيد وأعد تعريضها للطرد المركزي وأفضل الطافي.	للتخلص من محلول ١٦% جليسيرول.
٨.	كرر الخطوة السابقة (٧) مع حجم مساو من محاليل جليسيرول ٨% و ٤% و ٢% وأخيرا محلول ملحي.	للتخلص من آثار الجليسيرول بشكل تدريجي كي لا تتحلل الخلايا الحمراء بسبب الصدمة الأسموزية.
٩.	امزج مكثف الخلايا الحمراء بعد التخلص من الجليسيرول بشكل كامل مع أربعة أضعاف حجمها من المحلول الملحي.	للحصول على كاشف خلايا حمراء في المحلول الملحي بتركيز ٢٠%.

الكفالية العملية - ١٤١ -

الكشف عن انتيجينات البقع الحيوية بتجربة الغسل الدقيقة

(Microelution)

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على استخلاص البقع الحيوية وتشمل الدم والإفرازات المهبلية والسائل المنوي واللعاب وإفرازات القناة الهضمية والكشف عن انتيجيناتها لمطابقتها مع الانتيجينات الخاصة بالمتشويين.

المبدأ :

تستخلص البقعة الحيوية ويتم التعرف على مصدرها إن كان إنسانا أو حيوانا يتبع ذلك الكشف عن وجود انتيجينات الخلايا الحمراء M.N.H.B.A.E.C.D.S الخ وبروتينات المصل Km, Gm. عن طريق تعطيلها للأجسام المضادة بطريقة الغسل الدقيقة Microelution. تعتبر بروتينات المصل Km, Gm فعالة في التعرف على بقع الدم ومطابقتها مع دم المشويين لأنها ثابتة بشكل ملموس ولا تتأثر بالحرارة ويمكن إثبات وجودها بعد زمن طويل نسبيا.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- أمصال الأجسام المضادة لمختلف انتيجينات المجموعات الدموية وخاصة نظام S,N,M,H,B,A وانتيجينات بروتينات المصل Km,Gm.
- معلقات خلايا حمراء في المحلول الملحي بتركيز ١% تخص الانتيجينات المطلوب الكشف عن وجودها معالجة بالأنزيمات المناسبة عند الضرورة.
- قطارات مناسبة (باستور)
- معلقات حبيبات البوليمترين (لاتيكس) المكسوة بانتيجينات Km, Gm
- ماء مقطر
- أنابيب شعيرة
- جهاز طرد مركزي
- محلول ملحي
- حمام مائي مزود بهزاز
- ثلاجة
- ماء مقطر
- أنابيب اختبار ١١٠×١٠ ملم
- مقص
- محلول بوقاين اليوميون ٣٠%

الوقت	الخطوات	المبررات
١.	تأكد من وجود بطاقة العينة قبل استلامها توضح مصدرها وطبيعتها وتاريخ جمعها.	لمطابقتها مع العينة ولتوثيقها في السجلات للرجوع إليها عند الحاجة
٢.	أعط العينة رقمها المخبري المتمثل.	لتسهيل عملية الرجوع إليها في السجلات.
٣.	قم بفصل البقعة المطلوب التعرف على انتيجياتها عن بقية النسيج أو المسطح الحامل لها وجزئها إلى أكبر عدد ممكن من الأجزاء التي مساحتها أكبر من ٥ سم ^٢ .	لاستخدام الأجزاء في التجارب الخاصة في التعرف على نوع العينة وانتيجياتها.
٤.	استخلص البقع الحيوية من النسيج الحامل بأقل كمية من الماء المقطر وقم بالكشف عن ما يلي: أ. نشاط إنزيم البيريدوكسميداز باستخدام محلول البنزدين أو الفينول فيثالين المختزل. ب. الفسفوتيز الحامضي ج. وجود حيوانات منوية. د. نشاط إنزيم الأميليز ووجود خلايا طلائية.	للتعرف على طبيعة ومصدر البقع الحوية. لتمييز بقع الدم عن غيرها. لتمييز السائل المنوي والإفرازات المهبلية عن غيرها. للتفريق بين البقع اللعابية والإفرازات المهبلية. لتمييز البقع اللعابية بنشاط محسوس لإنزيم الأميليز في حين تخلو الإفرازات المهبلية من أي أثر للإنزيم.
٥.	أملأ أنبوب شعري حتى ربعه بمستخلص البقعة الصافي واتبعه بحجم مساو من مصطل كومب (AHG) واكشف عن وجود راسب أبيض في مسطح التماس.	لتمييز دم الإنسان عن دم بقية الحيوانات.
٦.	وزع في أنابيب اختبار ١٠×١٠ ملم ثلاث خيوط (طول ٢ ملم) أو قطعة قماش ملوثة	لمقاومة انتيجينات البقع كل على حدة مع جسمه المضاد.

	<p>بالبقعة مساحتها، ٢٢ ملم أو ما يعادلها من المسطوح الأخرى بعدد الانتيجينات المطلوب للكشف عنها وأغمر كل منها في ٠,٠٦ ملل من مصبل الأجسام المضادة المخففة المضادة المجمعة بشكل مناسب وأحفظ الأنابيب بدرجة الحرارة المناسبة بعد إغلاقها بأحكام لمدة ٢٤ ساعة.</p>	
٧.	<p>تخلص من المصبل بالطرد المركزي وأغسل خيوط التسيج ٥ مرات بالمحلول الملحي من المثليج بحيث تفعل آخر مرة بخليط ٣٠% بوفالين اليوميين والمحلول الملحي المثليج بنسبة ١:١٠٠ وحافظ على وجود الأنابيب خلال عملية الغسل التي تستغرق ٢-٣ ساعات بدرجة ٤م.</p>	<p>لتخلص من المصبل وبقية الموائل بشكل كامل بعد كل عملية غسل والاحتفاظ بالنتيجات البقع وأجسامها المضادة المرتبطة معها.</p>
٨.	<p>أغمر الخيوط بـ ٠,٠٦ ملل من الألبومين المخفف في حمام مائي بدرجة ٥٥-٦٠ على هزاز لمدة ١٠ دقائق.</p>	<p>لاستخلاص ما ثبت من الأجسام المضادة على سطح الخيوط بعد تفاعلها مع الانتيجينات.</p>
٩.	<p>أضف ٠,٠٣ ملل من معلق خلايا حمراء في الألبومين تركيز ٠,٣% وأمزج الأنابيب جيداً وأحفظها لمدة ساعة ونصف في درجة الحرارة المناسبة.</p>	<p>لإتاحة الفرصة للأجسام المضادة التي تم تحريرها من الخيوط للتفاعل مع انتيجيناتها في سطح الخلايا الحمراء المضافة.</p>
١٠.	<p>تأكد من حدوث التكتل بمساعدة الطرد المركزي والمجهر.</p>	<p>لأن ظهور التكتل يشير إلى وجود الانتيجين في البقعة الحيوية.</p>
١١.	<p>نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمبواد إلى أماكن حفظها.</p>	<p>استعداداً لإعادة التجربة والحفاظ على نظافة الموقع وملاءمة البيئة.</p>

الكتاب الثاني

الكيمياء التحليلية

Analytical Chemistry

الكفاية العملية - ١٤٢ -

تحضير المحاليل القياسية

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على تحضير المحاليل القياسية (المحاليل المعروفة تركيزها بدقة تامة) وأن يعبر عن تركيزها بالطرق المختلفة.

المبدأ :

يتم إجراء الحسابات اللازمة لمعرفة كمية المذاب (بالغم للمركبات الصلبة والملل للمركبات السائلة) اللازمة بناءا على تركيز وحجم المحلول القياسي المطلوب تحضيره. يتم إذابة كمية المذاب المحسوبة بأقل كمية ممكنة من المذيب ومن ثم تخفيف المحلول بدرجة حرارة الغرفة إلى الحجم المطلوب تحضيره. يتم التعبير عن تركيز المحلول القياسي بأي من الطرق التالية: الوحدات المطلقة (غم/لتر أو أجزاءه) والنسبة المئوية والالفية والمليونية والجزئية (مول/لتر) والمعيارية (وزن مكافئ/لتر).

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- دوارق قياسية بسعات مختلفة
- كؤوس زجاجية بسعات مختلفة
- قمع زجاجي يناسب فتحة الدوارق القياسية
- قضيب زجاجي
- زجاجات غسيل
- ميزان حساس
- آلة حاسبة
- عبوة المركب المذاب
- ماء مقطر كمذيب

الرقم	الخطوات	المبوبات
١.	تعرف على حجم المحلول القياسي المطلوب تحضيره	لاختيار الدوارق القياسية الذي يماوي حجمه أو يزيد قليلا عن حجمه.
٢.	تعرف على طبيعة المذاب ورمزه الجزيئي كاملا	لإستخدام الرمز الجزيئي في تحويل وحدة تركيز المحلول القياسي المطلوب إلى الوحدات المطلقة (غم/لتر).
٣.	تعرف على الكثافة النوعية (ك.ن) للمذاب إذا كان سائلا	لإستخدامها في تحويل كمية المذاب المسائل من الغرامات إلى مليلترات.

<p>٤.</p> <p>طبق أي من المعادلات التالية لتحويل وحدة تركيز المحلول القياسي المطلوب إلى الوحدات المطلقة (غم / لتر)</p> <p>١. النسبة المئوية $10 \times$</p> <p>٢. النسبة المئوية $10 \times$ ك.ن</p> <p>٣. النسبة الألفية (PPT) $1 \times$</p> <p>٤. النسبة الألفية (PPT) $1 \times 10 \times$ ك.ن</p> <p>٥. النسبة المليونية (PPM) 10×10^{-3}</p> <p>٦. النسبة المليونية (PPM) 10×10^{-3} ك.ن</p> <p>٧. المعيارية (N) \times وزن مكافئ</p> <p>٨. الجزيئية (مول/لتر) \times وزن جزيئي</p> <p>لتحويل النسبة المئوية (w/v) إلى وحدة غم/لتر</p> <p>لتحويل النسبة المئوية (v/v) إلى وحدة غم/لتر</p> <p>لتحويل النسبة الألفية (w/v) إلى وحدة غم/لتر</p> <p>لتحويل النسبة الألفية (v/v) إلى وحدة غم/لتر</p> <p>لتحويل النسبة المليونية (w/v) إلى وحدة غم/لتر</p> <p>لتحويل النسبة المليونية (v/v) إلى وحدة غم/لتر</p> <p>لتحويل المعيارية إلى وحدة غم/لتر</p> <p>لتحويل المعيارية إلى وحدة غم/لتر</p>	<p>٥.</p> <p>تعرف على الرمز الجزيئي للمركب المطلوب تحضير محلوله القياسي وبقية المعلومات المثبتة على عبوته</p> <p>٦.</p> <p>أحسب وزن المركب بالغم اللازم لتحضير الحجم المطلوب (إذا تطابق مع سعة أي دورق قياسي) أو حجم الدورق القياسي الذي يلي الحجم المطلوب) من المحلول القياسي بعد معرفة تركيزه بالوحدات المطلقة (غم / لتر).</p> <p>٧.</p> <p>ضع كمية المذاب الموزونة في كأس زجاجي مناسبة وأعمل على إذابته بأقل كمية من المذيب (ماء مقطر) مستعينا بالتحريك بواسطة قضيب زجاجي ورفع درجة الحرارة إذا لزم.</p> <p>٨.</p> <p>أنقل الطافي بعد ترويق المحلول إذا لم تكتمل إذابة الكمية الموزونة إلى الدورق القياسي بواسطة قمع مناسب.</p>	<p>٥.</p> <p>٦.</p> <p>٧.</p> <p>٨.</p>
<p>لأخذ بعين الاعتبار ماء التبلور والشوائب في حالة وجودها أثناء القيام بالإجراءات الحسابية ولمعرفة الكثافة النوعية إذا كان سائلا وكذلك الوزن الجزيئي.</p> <p>لوزنها بشكل دقيق بالميزان الحساس إذا كان المذاب صلبا أولاخذ الحجم الذي يعادل وزنها إذا كان المذاب سائلا ويمادل (الوزن) ك.ن</p>	<p>٥.</p> <p>تعرف على الرمز الجزيئي للمركب المطلوب تحضير محلوله القياسي وبقية المعلومات المثبتة على عبوته</p> <p>٦.</p> <p>أحسب وزن المركب بالغم اللازم لتحضير الحجم المطلوب (إذا تطابق مع سعة أي دورق قياسي) أو حجم الدورق القياسي الذي يلي الحجم المطلوب) من المحلول القياسي بعد معرفة تركيزه بالوحدات المطلقة (غم / لتر).</p> <p>٧.</p> <p>ضع كمية المذاب الموزونة في كأس زجاجي مناسبة وأعمل على إذابته بأقل كمية من المذيب (ماء مقطر) مستعينا بالتحريك بواسطة قضيب زجاجي ورفع درجة الحرارة إذا لزم.</p> <p>٨.</p> <p>أنقل الطافي بعد ترويق المحلول إذا لم تكتمل إذابة الكمية الموزونة إلى الدورق القياسي بواسطة قمع مناسب.</p>	<p>٥.</p> <p>٦.</p> <p>٧.</p> <p>٨.</p>
<p>لأخذ بعين الاعتبار ماء التبلور والشوائب في حالة وجودها أثناء القيام بالإجراءات الحسابية ولمعرفة الكثافة النوعية إذا كان سائلا وكذلك الوزن الجزيئي.</p> <p>لوزنها بشكل دقيق بالميزان الحساس إذا كان المذاب صلبا أولاخذ الحجم الذي يعادل وزنها إذا كان المذاب سائلا ويمادل (الوزن) ك.ن</p>	<p>٥.</p> <p>تعرف على الرمز الجزيئي للمركب المطلوب تحضير محلوله القياسي وبقية المعلومات المثبتة على عبوته</p> <p>٦.</p> <p>أحسب وزن المركب بالغم اللازم لتحضير الحجم المطلوب (إذا تطابق مع سعة أي دورق قياسي) أو حجم الدورق القياسي الذي يلي الحجم المطلوب) من المحلول القياسي بعد معرفة تركيزه بالوحدات المطلقة (غم / لتر).</p> <p>٧.</p> <p>ضع كمية المذاب الموزونة في كأس زجاجي مناسبة وأعمل على إذابته بأقل كمية من المذيب (ماء مقطر) مستعينا بالتحريك بواسطة قضيب زجاجي ورفع درجة الحرارة إذا لزم.</p> <p>٨.</p> <p>أنقل الطافي بعد ترويق المحلول إذا لم تكتمل إذابة الكمية الموزونة إلى الدورق القياسي بواسطة قمع مناسب.</p>	<p>٥.</p> <p>٦.</p> <p>٧.</p> <p>٨.</p>

٩.	<p>كرور الخطوات ٧ و ٨ حتى عديم روية أية أثر للمذاب في الكأس.</p>	<p>للتأكد من اكتمال إذابة الكمية الموزونة والاحتفاظ بها في الدورق القياسي</p>
١٠.	<p>إملاً الدورق القياسي بالمذيب حتى ما قبل العلامة المثبتة على عنق الدورق القياسي ومن ثم حتى يتطابق مؤشر سطح التقعر مع العلامة بالتنقيط.</p>	<p>لضبط الحجم النسبائي للمحلول القياسي إذا كانت درجة حرارته بدرجسة حرارة الغرفة وبشكل مبدئي إذا استُخدمت الحرارة في عملية الإذابة.</p>
١١.	<p>أترك الدورق القياسي حتى يكتسب درجة حرارة الغرفة إذا استخدمت الحرارة في تحضير المحلول وأعد ضبط مؤشر سطح المحلول على العلامة بالتنقيط.</p>	<p>لتعويض ما تقلص من حجم المحلول القياسي خلال عملية التبريد.</p>
١٢.	<p>أقلل الدورق القياسي بمسدود وامزج محتوياته بالتقليب.</p>	<p>للحصول على محلول قياسي متجانس التركيز.</p>
١٣.	<p>قم بمعايرة المحلول القياسي المحضر بمحلول قياسي أساسي إذا كان المذاب مركباً ثنائياً.</p>	<p>لمعرفة تركيز المحلول القياسي الثانوي المحضر بشكل دقيق.</p>
١٤.	<p>نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.</p>	<p>استعداد التحضير محاليل قياسية أخرى والمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.</p>

الكفاية العملية - ١٤٣ -

إستخدام الماصات (Pipettes)

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على استخدام الماصات الزجاجية في الحصول على أحجام محددة من السوائل بشكل دقيق عند الحاجة لها في التجارب المخبرية.

المبدأ :

تملأ الماصات بالسوائل بعد غمس فتحاتها الضيقة تحت سطح السائل بفعل الفراغ المستحدث فوق سطح السائل داخل الماصة. تختلف الماصات عن بعضها بسعاتها وحسابياتها وطريقة استحداث الفراغ فوق سطح السائل داخلها. يقدر مدى السعة في الماصات الزجاجية بـ ٠,١ - ٢٥ مللتر ومدى حساسيتها بـ ١ ميكمل الى ١ ملل. يستخدم الفم في استحداث الفراغ فوق سطح السائل داخل الماصة عند التعامل مع السوائل المأمونة (غير ضارة) وتستخدم السيرينجات أو المضخات المطاطية في استحداث الفراغ فوق سطح السائل داخل الماصة عند التعامل مع السوائل غير المأمونة. تستخدم الماصات الأوتوماتيكية عند التعامل مع العينات.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- ماصات زجاجية
- مضخات مطاطية
- أي من السوائل المأمونة
- العينات
- سوائل غير مأمونة
- ماصات أوتوماتيكية.
- حارقة أو ماصة.

أ. استخدام الماصات الزجاجية بواسطة الفم

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	تعرف على كمية السائل المطلوب الحصول عليها.	لاختيار الماصة ذات السعة والحساسية المناسبة.
٢.	تأكد من أن الماصة التي تم اختيارها نظيفة وجافة.	لتجنب تلوث السائل بالشوائب المائية والجافة.
٣.	أقبض على الجزء العلوي للماصة (فوق التدرج أو علامة السعة أو الصفر) وقربها من فتحة الماصة العليا بإبهام ومسطى اليد اليمنى	كفي يكون بالإمكان استخدام للشاهد في التحكم بدخول الهواء من الفتحة العليا للماصة ولمشاهدة حركة السوائل داخل

	بحيث يكون التدريج أو علامة المعة باتجاه الوسطى.	الماسة أثناء استخدامها
٤.	أقبض على حاوية المسائل بسايد اليسرى بعد إزالة سددها.	لكي تتمكن من سحب المسائل من الحاوية بأقل جهد ممكن (دون الحاجة إلى الانحناء أو الوقوف على رؤوس أصابع القدمين).
٥.	أغمس الفتحة الضيقة للماسة تحت سطح المسائل واستحدث الفراغ الذي يسمح بصعود المسائل إلى أعلى من الصفر الحقيقي أو الصفر الافتراضي بحوالي ١ - ٢ سم عن طريق سحب الهواء بلطف وأقل الفتحة العليا بشاهد اليد اليمنى.	للحصول على كمية المسائل تزيد قليلا عن الكمية المطلوبة.
٦.	حول التدريج أو علامة الماسة باتجاه الإبهام وأضبط أدنى قطرة من صحن تقعر سطح المسائل على الصفر الحقيقي أو الافتراضي بحيث يكون مسقط النظر عموديا عليه عن طريق السماح بخروج المسائل الفائض إلى الحاوية.	لمشاهدة سطح المسائل وعلامة الصفر وبسبب اعتبار أدنى قطرة من سطح التقعر مؤشرا لسطح المسائل ولتوفير الدقة في القياس.
٧.	استبدل حاوية المحلول بأنبوب إختبار أو أي حاوية أخرى واسمح بخروج كمية المسائل المطلوبة بضبط مؤشر سطح المسائل على العلامة المناسبة كما ضبط على علامة الصفر.	للحصول على كمية المسائل المطلوبة بشكل دقيق.
٨.	ضع الأنبوب في حامله وأعد فائض المسائل المتبقي في الماسة إلى حاويته وأقلها.	لإستخدامه في تجارب أخرى.
٩.	نظف الماسة بالماء المقطر وضعها في محلول الغسيل لمدة نصف ساعة وأعد غسلها بالماء المقطر وأعدّها مع المحاليل إلى أماكن حفظها ونظف مكان العمل	استعددا لإستخدامها مرة أخرى وللحفاظ على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

ب. استخدام الماصات الزجاجية بواسطة المضخة المطاطية

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	بعد اختيار الماصة الزجاجية والتأكد من نظافتها ثبت في فتحتها العلوية المضخة المطاطية.	لاستخدامها بدل القم في استحداث الفراغ فوق سطح المسائل داخل الماصة لوقاية الفسي نفسه من تأثير المحاليل غير المأمونة.
٢.	أقبض على الماصة قرب المضخة المطاطية باليد اليسرى واضغط بالإبهام والشاهد على الموقع رقم ١ وفي اليد اليمنى على الكرة المطاطية.	لطررد الهواء من الكرة المطاطية عن طريق فتحة الموقع رقم ١.
٣.	أرفع الضغط عن الموقع ١ قبل رفعها عن الكرة المطاطية المفرغة من الهواء.	لمنع عودة الهواء إلى الكرة المطاطية من خلال فتحة الموقع رقم ١ والاحتفاظ بالفراغ داخلها.
٤.	أقبض على الجزء العلوي من الماصة قرب الكرة المطاطية بالوسطى وخنصر وينصر اليد اليمنى وراحتها بحيث يكون التدريج أو علامة المعة مواجهًا لك وأقبض على حاوية المسائل بعد فتحها باليد اليسرى.	كي يكون بالإمكان استخدام إبهام وشاهد اليد اليمنى في الضغط على المواقع ٢ و ٣ بحرية ولمشاهدة حركة السوائل داخل الماصة.
٥.	أغمس الفتحة السفلى (الضيق) للماصة تحت سطح المسائل واضغط بإبهام وشاهد اليد اليمنى على الموقع رقم ٣ حتى صعود المسائل حتى يتطابق مؤشر سطحه مع الصفر الحقيقى أو الافتراضى.	لإحداث فراغ نسبى فوق سطح المسائل داخل الماصة بوصله مع الفراغ النسبى للكرة المطاطية والسماح بارتفاع المسائل داخل الماصة.
٦.	استبدل حاوية المسائل بأنبوب اختبار أو أية حاوية أخرى وأقفها واضغط بإبهام وشاهد اليمنى على موقع المفتاح رقم ٢.	للسماح بدخول الهواء من فتحة الموقع رقم ٢ إلى سطح المسائل داخل الماصة وبالتالي خروج المسائل منها.
٧.	راقب حركة نزول مؤشر سطح المسائل وأرفع الضغط	للحصول على كمية المسائل المطلوب في أنبوب الاختبار بدقة.

	عن فتحة الموقع رقم ٢ عند تطابق مؤشر سطح السائل مع العلامة المطلوبة.	
٨.	ضع الأنبوب في حامله وضع فتحة الماصة الضيقة في فتحة حاوية السائل واضغط موقع رقم ٢ حتى خروج السائل من الماصة بشكل كامل.	لإستخدام السائل مرة أخرى عند الحاجة.
٩.	تجنب دخول السوائل إلى الكرة المطاطية أثناء استخدام المضخة.	لوقاية المضخة المطاطية من التلف بسبب تأثير المطاط بالسوائل المستخدمة.
١٠.	نظف الماصات بالماء المقطر بعد تركها في محلول الغسيل لنصف ساعة على الأقل ونظف مكان العمل وأعد الأدوات والمواد إلى أماكن حفظها.	استعددا لاستخدامها مرة أخرى وللحفاظ على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

جـ. استخدام الماصات الأوتوماتيكية

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	بعد اختيار الماصة المناسبة ثبت في فتحتها رأسا Tip غير ثابت يناسبها.	لاستخدام المقدمة في التعامل مع عينة واحدة فقط.
٢.	أقبض على الماصة براحة يدك اليمنى بحيث تكون واجهة الماصة مقابل الأصابع واضغط حتى المستوى الأول بإبهام اليمنى.	لطردها بجم العينة.
٣.	اغمس رأس الماصة تحت سطح العينة بدون تعكير محتوياتها وأرفع ضغط المستوى الأول.	لإحداث فراغ يستوعب داخله حجم العينة المطلوبة.
٤.	أخرج مقدمة الماصة خارج العينة وأنقلها إلى أنبوب اختبار أو حاوية مناسبة واضغط بإبهام اليمنى حتى المستوى الثاني.	لطردها للحجم المطلوب من العينة داخل أنبوب الاختبار أو الحاوية.
٥.	تخلص من رأس الماصة وثبت في مقدمتها رأسا جديدة.	استعددا لاستخدام الماصة في الحصول على نفس الحجم من العينات الأخرى.

٦.	قم بإعادة الخطوات ٢ و ٣ و ٤ و ٥ مع كل عينة.	لاستخدام الماصة في الحصول على نفس الحجم من العينات الأخرى.
٧.	نظف مكان العمل وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.	استعددا لاستخدام الماصة مرة أخرى عند الحاجة والمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية - ١٤٤ -

استخدام السحاحة (Burette) في المعايرات الكيميائية

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على استخدام السحاحة في اجراء المعايرات الكيميائية المختلفة.

المبدأ :

يتمثل المبدأ العلمي للمعايرة الكيميائية بأن التفاعلات الكيميائية تكتمل دائما بإعدادات متساوية من الأوزان المكافئة للمواد المتفاعلة. يمكن معرفة عدد الأوزان المكافئة في أي محلول بضرب معياريته (Normality) بحجمه باللتترات. تستخدم السحاحة لمعرفة حجم المحلول القياسي اللازم لإكمال تفاعله مع حجم محدد من العينة يشار لإكمال التفاعل في عنيات المعايرة بقطرة النهاية وتتميز بعدم وجود فائض من المواد المتفاعلة في دورق المعايرة. تحدد قطرة النهاية في عنيات المعايرة باختفاء اللون أو ظهوره إذا رافق التفاعل الكيميائي تغيير لوني أو بمساعدة الكواشف أو باستخدام الأقطاب الكهربائية.

الأجهزة والاموات والمواد اللازمة :

- سحاحة ذات سعة وحساسية
- حامل مناسب للسحاحة
- مناسبة
- بلاطة سيراميك بيضاء
- قمع يناسب الفتحة العلوية للسحاحة
- محاليل قياسية "معايرة ١"
- محاليل "معايرة ٢"
- دورق مخروطي سعة ١٠٠ مل أو ٢٥٠ مل.
- كاتف مناسب لعملية المعايرة
- ماء مقطر.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	ثبتت السحاحة بواسطة الحامل بشكل عمودي بحيث يواجهك تدريجها ويكون مقبض السداد السفلي باتجاه اليمين.	استعدادا لفضائها ومعايرتها وملئها بمحلول المعايرة.
٢.	ضع بلاطة السيراميك فوق قاعدة حامل السحاحة.	كي توفر خلفية بيضاء أسفل دورق المعايرة تساعد على مشاهدة أي تغيير لوني في المحلول.
٣.	ضع القمع في الفتحة العليا للسحاحة.	لإستخدامه في ملئ السحاحة بالمحاليل.

٤.	ضع تحت فتحة السحاحة السفلى دورق مخروطي واملأ السحاحة بالماء المقطر وتخلص منه بفتح سدادة فتحتها السفلى كرر عملية ملئ السحاحة وتفرغها مرة أخرى.	اغسل السحاحة والتأكد من خلوها من أية رواسب ملحية.
٥.	أكشف عن صلاحية سدادة الفتحة السفلية للسحاحة إذا كان زجاجيا وتأكد من عدم خروج المحلول من جوانبه عند التعامل معه.	كي نضمن استخدام كامل للمحلول القياسي بواسطة السحاحة في عملية المعايرة وعدم هدره خارج التفاعل.
٦.	اغسل السحاحة مرتين بمحلول المعايرة ١.	للتخلص من آثار أو نقاط الماء داخلها.
٧.	املأ السحاحة بمحلول المعايرة ١ واقتح السداد السفلي لخروج عتدة مليترات من المحلول.	للتخلص من الهواء المحصور بين السداد ورأس السحاحة .
٨.	أضبط مؤشر سطح المحلول داخل السحاحة (أنسى قطرة في تقعمر سطحه) على الصفر الإقتراضي المناسب بسدال الصفر الحقيقي.	للقيام بعملية المعايرة دون توتر أو إجهاد نتيجة محاولات الوقوف على أطراف الأصابع لوضع علامة الصفر الحقيقي في متناول المسقط العمودي للنظر على سطح التدرج.
٩.	اسمح بخروج ٢٠ قطرة من محلول المعايرة ١ من فتحة السحاحة السفلى وحدد موقع مؤشر سطح المحلول داخل السحاحة.	لقياس حجم قطرة السحاحة بتقسيم حجم المحلول الذي خرج من السحاحة على عدد النقاط (٢٠) وبالتالي معايرة السحاحة.
١٠.	ضع في دور مخروطي سعة ٢٥٠ ملل نظيفة حجم ($V_2 = 100$ ملل) من محلول العينة ٢ وأضف لها حوالي ٢٠ ملل ماء مقطر.	للمساعدة على مشاهدة أدنى تغيير في اللون كمؤشر على قطرة النهاية عن طريق تخفيف العينة.
١١.	ضع ٢ - ٣ نقط من الكاشف المناسب لعملية المعايرة عند اللزوم.	لتحديد قطرة النهاية عن طريق تغيير لون الكاشف عند وجود أدنى فائض من محلول المعايرة في كأس المعايرة.
١٢.	إحتوي سدادة الفتحة السفلى للسحاحة براحة يدك	للتمكن من فتح وإقفال السداد بسهولة وثبات.

	اليمنى وأقبض على سداد الفتحة السفلى بشاهد وإيهام اليد اليسرى.	
١٣.	أقبض على دورق المعايرة بإيهام وشاهد ووسطى اليد اليمنى واسمح بخروج محلول المعايرة بكميات قليلة إلى محلول العينة (٢) في دورق المعايرة مع الخض المستمر حتى قطرة النهاية.	لمعرفة حجم المبني من محلول المعايرة (١) اللازم للوصول إلى قطرة النهاية وذلك بإيجاد الفرق بين موقع مؤشر سطح المحلول داخل المساحة قبل المعايرة (الصفر الافتراضي) وبعد المعايرة (قطرة النهاية).
١٤.	أعد الخطوات ١٠ و ١١ و ١٢ و ١٣ مرة أخرى بحيث تضاف كمية من محلول المعايرة تعادل أقل من الحجم المبني بـ ١ ملل والانتظار حتى اختفاء قطرة النهاية بسبب الخض ومن ثم استعادتها مرة أخرى بإضافة محلول المعايرة بالتقطيط والخض.	لمعرفة الحجم التقريبي من محلول المعايرة اللازم للوصول إلى قطرة النهاية.
١٥.	نقص حجم قطرة محلول المعايرة المسؤولة عن ظهور قطرة النهاية من الحجم التقريبي لمحلول المعايرة.	للحصول على الحجم الحقيقي وبشكل دقيق لمحلول المعايرة (V ₁) اللازم لاكمال التفاعل مع حجم العينة (V ₂) الموجود في دورق المعايرة.
١٦.	طبق معادلة المعايرة التالية على نتائج التجربة: $N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$ حيث V ₁ , N ₁ معايرة وحجم المحلول القياسي (محلول المعايرة و V ₂ , N ₂ معايرة وحجم محلول العينة على التوالي.	لحساب معايرة العينة (N ₂).
١٧.	نظف المساحة بالماء المقطر مرتين بعد تفرغها من محلول المعايرة وأعد ملئها بالماء المقطر وأقل فتحتها العليا بسداد.	لمنع تراكم الرواسب الملحية داخلها وخاصة في محيط السداد وفتحها السفلي.

١٨ .	نظف بقية الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.	استعداذا لإجراء المعالجة مرة أخرى والمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.
------	--	---

الكفالة العملية - ١٤٥ -

استخدام الميزان المخبري (Analytical Balance)

الهدف :

أن يكون الطالب قادراً على استخدام الموازين المخبرية في قياس كتل المواد المختلفة وتحضير المحاليل القياسية أو وزن الراسب بعد تنقيته من الشوائب كأخر خطوة عملية في التحليل الوزني.

المبدأ :

تتمثل عملية الوزن بالمقارنة بين قوة جاذبية الأرض للكتل الموزونة مع قوة جاذبيتها لكتل قياسية (مرجعية) في نفس الموقع. تصنف الموازين بناءً على آلية عملها إلى موازين الكفتين (Two Pans Balance) وموازين الكفة الواحدة (Single Pan Balance). تتميز موازين الكفتين بأن حساسيتها غير ثابتة بسبب عدم ثبات كتلة شعاع الميزان وملحقاته لأنها تزيد بما يعادل ضعف الكتلة الموزونة في كل عملية. لذا يفضل استخدام موازين الكفة الواحدة لأن حساسيتها ثابتة بسبب ثبات كتلة شعاع الميزان وملحقاته. تتم عملية الوزن بميزان الكفة الواحدة بإحلال الكتلة الموزونة مكان ما يعادلها من أوزان ملحقة بالكفة في أحد أطراف الشعاع. في حين تتم عملية الوزن في ميزان الكفتين بوضع الكتلة الموزونة في الكفة اليسرى للميزان ووضع ما يعادلها من الكتل القياسية في الكفة اليمنى.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- ميزان الكفتين.
- ميزان الكفة الواحدة.
- المواد المطلوب قياس كتلها.
- مجموعة كتل قياسية.

أ. استخدام ميزان الكفتين

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	أضبط الأرجل المسننة لقاعدة الميزان حتى تقع القاعدة الهوائية الخاصة بالميزان على المثبت الدائري أو حتى يتطابق رأس الشاقول المذبذب مع رأس الدبوس العمودي المثبت أسفل قاعدة.	لجعل سطح قاعدة الميزان في مستوى أفقي.

٢.	<p>ضع شعاع الميزان وملحقته في حالة التارج (منشور الارتكاز يلامس قاعدة الارتكاز) وتأكد من أن انحراف مؤشر الميزان على جانبي الصفر متساويا. استخدم مسننات نهاية الشعاع للتحكم في موقع المؤشر على لوحة التدرج عندما يكون الشعاع مستقرا.</p>	<p>للتأكد من إتزان الميزان قبل استخدامه عن طريق جعل قطرة استقرار المؤشر هي قطرة الصفر المثبتة على لوحة التدرج أسفل قاعدة الميزان.</p>
٣.	<p>أعد شعاع الميزان وملحقته الى حالة الاستقرار وضع الجسم المطلوب وزنه بعد التأكد من أن درجة حرارته تطابق درجة حرارة الميزان في الكفة اليسرى للميزان وضع كتل قياسية تقارب كتلة الجسم في الكفة اليمنى للميزان باستخدام الملقط.</p>	<p>كي يتم التعامل مع محتويات الكفتين والشعاع وملحقته ومنشور الارتكاز بعيد عن قاعدة الارتكاز.</p>
٤.	<p>أقلل أبواب الميزان الجانبية وأعد الشعاع وملحقته الى وضع التارج حيث يلامس منشور الارتكاز قاعدة الارتكاز.</p>	<p>لمقارنة كتلة الجسم الموجودة في كفة الميزان اليسرى مع الكتل القياسية الموجودة في كفته اليمنى بعيدا عن تدخل تيارات الهواء.</p>
٥.	<p>أعد الشعاع وملحقته الى حالة الاستقرار وقم بإضافة المزيد من الكتل القياسية بشكل تدريجي الى الكفة اليمنى إذا كان انحراف المؤشر في حالة التارج على يمين قطرة الصفر أو بإزالة الكتل القياسية بشكل تدريجي من الكفة اليمنى إذا كان انحراف المؤشر في حالة التارج على يسار نقطة الصفر.</p>	<p>للوصول الى حالة الاتزان بين كتلة الجسم الموجودة في الكفة اليسرى مع الكتل القياسية الموجودة في الكفة اليمنى.</p>
٦.	<p>أعد الشعاع وملحقته الى وضع الاستقرار وأجمع قيم الكتل القياسية الموجودة في الكفة اليمنى عند إزالتها بالملقط.</p>	<p>لمعرفة كتلة الجسم بشكل دقيق.</p>
٧.	<p>قم بإزالة الكتلة الموزونة وأقلل أبواب الميزان وحافظ عليه ثابتا في موقعة بعيدا عن التيارات الهوائية ومصادر الغبار.</p>	<p>إستعداد لإعادة استخدامه عند الحاجة.</p>

٨.	عند الحاجة لوزن كتلة معلومة من أي مركب تأكد من صحته.	للتعامل معه على شكل غبار وذلك لتوفير أكبر قدر من الدقة في عملية الوزن.
٩.	تعرف على كتلة زجاجة ساعة نظيفة وجافة ومسمتها مناسبة بتنفيذ الخطوات ٣ و ٤ و ٥ و ٦.	لاستخدام زجاجة الساعة المعروف وزنها كحداوية للمسحوق لوقاية الكفة من التفاعل مع المركبات الموزونة.
١٠.	أضف إلى الكتل القياسية التي تعادل زجاجة الساعة مجموعة كتل قياسية تعادل الكتلة المطلوب وزنها من المركب في الكفة اليمنى وضع في زجاجة الساعة كمية من مسحوق المركب تقارب الكتلة المطلوب وزنها واجعل الميزان في وضع التاراجح بعد قفل أبواب الميزان الجانبية.	لمقارنة الكتل القياسية الموجودة في الكفة اليمنى مع كتلة زجاجة الساعة وكتلة ما تحتويه من مسحوق المركب.
١١.	أضف قليلا من مسحوق المركب إلى زجاجة الساعة في الكفة اليسرى إذا انحرف المؤشر إلى اليسار أو نقص المسحوق قليلا إذا انحرف المؤشر إلى اليمين. كرر أي من الإجراءين حتى يتساوى انحراف المؤشر على جانبي قطرة الصفر.	للوصول إلى حالة الاتزان بين الكتل القياسية الموجودة في الكفة اليمنى وزجاجة الساعة والمسحوق داخلها في الكفة اليسرى.
١٢.	أعد الشعاع إلى وضع الاستقرار وقم بإزالة الكتل القياسية وزجاجة الساعة بما تحتويه من مسحوق وأغلق أبواب الميزان وأعد الأدوات والمواد إلى أماكن حفظها.	استعدادا لإعادة وزن كمية أخرى من مسحوق المركبات.

ب. استخدام ميزان الكفة الواحدة

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	أضبط الأرجل المستنة لقاعدة الميزان حتى تقع الفقاعة الهوائية الخاصة بالميزان المثبت في قاعدة الميزان في وسط الدائرة.	لجعل سطح قاعدة الميزان في مستوى أفقي.

٢.	<p>ضع شعاع الميزان في حالة تسأرجح بواسطة الرافعة عندما تكون الكفة خالية وجميع الكتل القياسية تدعم عزمها بجعل جميع القراءات الرقمية الخاصة بمئات وعشرات والجرامات وأغشار الجرامات أصفارا وأعمل على مطابقة المؤشر مع صفر الشريط الضوئي (استخدام المفاتيح الخاصة بالميزان).</p>	<p>لمعايرة الميزان عن طريق مطابقة قطرة استقراره مع قطرة صفراء.</p>
٣.	<p>أعد شعاع الميزان إلى حالة الاستقرار وضع الجسم المطلوب قياس كتلته في الكفة من خلال النافذة الجانبية بعد التأكد من تطابق درجة حرارة مع حرارته الميزان وأعد إغلاق للنافذة.</p>	<p>كي يتم التعامل مع الكفة وملحقاتها وشعاع الميزان في حالة استقرار بعيدا عن التيارات الهوائية.</p>
٤.	<p>استخدم مفاتيح القراءات الرقمية الخاصة بالكتل القياسية في رفع كتل قياسية يقارب مجموعها (في تقدير) الكتلة الموزونة عن الكفة وأعد الشعاع إلى حالة التارجح.</p>	<p>لمقارنة الكتلة الموزونة مع مجموع الكتل القياسية التي تم رفعها عن عزم الكفة.</p>
٥.	<p>تأكد من وجود مؤشر الميزان داخل الشريط الضوئي المتحرك والمدرج من ١-١٠٠ ملغم.</p>	<p>لمعرفة قيمة الكتلة الموزونة لأقرب ملغم عن طريق مجموع الكتل القياسية التي تم رفعها عن عزم الكفة.</p>
٦.	<p>استخدم المفتاح المناسب لرفع المزيد من الكتل القياسية (١٠ غم) عن عزم الكفة عند وجود المؤشر بين أي خطين متجاورين في تدريج الشريط الضوئي حتى يتطابق المؤشر مع الخط الأقل قيمة.</p>	<p>لمعرفة قيمة الكتلة الموزونة بشكل دقيق ولأقرب ٠.١ ملغم التي تمثل حساسية الميزان.</p>
٧.	<p>أعد شعاع الميزان إلى حالة الاستقرار وقم بإزالة الكتلة الموزونة عن الكفة وأعد الكتل القياسية المرفوعة إلى عزم الكفة بتحويل جميع القراءات الرقمية إلى صفر وأغلق النافذة.</p>	<p>استعدادا لاستخدامه مرة أخرى.</p>
٨.	<p>نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد إلى أماكن حفظها.</p>	<p>استعدادا لإعادة الوزن وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.</p>

ملاحظة	استخدم زجاجات الساعة عند الحاجة لوزن المركبات الترابية والبلورية وزجاجات الوزن محكمة الاغلاق لوزن السوائل وأطرح وزنها فارغة من وزنها مليئة.	للحفاظ على كفة الميزان نظيفة وضع تفاعلها مع المركبات الأخرى.
--------	---	--

الكفاية العملية - ١٤٦ -

معايرة الفيتامين ج في عينات الدم والبول

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على معايرة الفيتامين ج في عيناته.

المبدأ :

يقاس تركيز الفيتامين ج في عينات الدم أو البول بطريقة معايرة المعقدات حيث يقوم الفيتامين باختزال صبغة dichloroindophenol 2.6 الزرقاء الى مركب معقد عديم اللون. تتمثل نقطة النهاية بظهور اللون الوردي الذي يدوم فترة زمنية قصيرة.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- أنابيب اختبار ١١٠ × ١٠ ملم
- جهاز طرد مركزي.
- سحاحة أو ماصة مسعتها ٢ ملل وحساسيتها لا تزيد عن ٠.٠٥ ملم.
- ماصات زجاجية وماصات اوتوماتيكية بمسعات مختلفة.
- محلول المعايرة dichloroindophenol 2.6 محلول وتركيزه حوالي ١٠ ملغم/دل بحيث يعاير ١ ملل من المحلول مع ١ ملل من المحلول القياسي.
- محلول قياس لفيتامين ج تركيزه ١٠٠ ملغم/دل.
- محلول ١٠% ثلاثي كلوريد حامض الاسيتيك.

الوقت	الخطوات	الملاحظات
١.	أمزج ١ ملل من دم مجموع على الأوكسلات مع ١ ملل ماء مقطر في أنبوب ١١٠ × ١٠ ملم.	للحصول على محلول دم بعد تطلل الخلايا الحمراء بفعل الخاصية الأسموزية.
٢.	أضف الى محلول الخلايا الحمراء المتحللة ٢ ملل من محلول ١٠% ثلاثي كلوريد حامض الاسيتيك وأمزج الخليط جيدا.	لترسيب بروتينات الدم تمهيدا لفصلها.
٣.	عرض محتويات الأنبوب للطرد المركزي بسرعة ٣٠٠٠ د/د لمدة ١٠ دقائق.	لفصل الخليط الى راسب من البروتينات والطاقى الصافى.
٤.	ضع ٣ ملل من الطاقى الصافى في أنبوب اختبار مميز بالعلامة T لمعايرتها بمحلول	لمعرفة حجم محلول المعايرة اللازم لأكسدة الفيتامين في العينة T

	المعايرة من مساحة سمعتها ٢ ملل حتى ظهور اللون الوردي الذي يبقى ثابتاً لمدة ٣٠ ثانية على الأقل.	
٥.	ضع في أنبوب ثمان مميز بالعلامة S ١ ملل ماء مقطر واستبدل ٠.٠١ منه بـ ٠.٠١ من المحلول القياسي لفيتامين ج الذي تركيزه ١٠٠ ملغم/دل وأضف للخليط ٢ ملل ١٠% ثلاثي كلوريد حامض الاميتيك وقم بمعايرة الخليط بمحلول المعايرة كما في الخطوات السابقة.	لمعرفة حجم محلول المعايرة اللازم لأكسدة الفيتامين ج الموجود في المحلول القياسي.
٦.	وضع في أنبوب ثمان مميز بالعلامة B ١ ملل ماء مقطر و ٢ ملل من محلول ١٠% ثلاثي كلوريد حامض الاميتيك وعابر الخليط بمحلول المعايرة كما في الخطوات السابقة.	لمعرفة حجم محلول المعايرة الذي يمكن أن يختزل بفعل ثلاثي كلوريد حامض الاميتيك.
٧.	طبق المعادلة التالية: المعايرة الأولى - المعايرة الثالثة $\times 4$ المعايرة الثانية - المعايرة الثالثة $\times 3$	لمعرفة تركيز فيتامين ج في عينة الدم معبراً عنها بالملغم/د ويقدر بـ ٠.٨ - ١.٥ ملغم/دل في البلازما الطبيعية.
٨.	خفف الطاقى الصافي لعينة البول الطازجة بنسبة ٥:١ وعالج العينة المخففة بنفس الخطوات السابقة.	لمعرفة تركيز الفيتامين ج في البول معبراً عنه بالملغم/دل. يخرج ما يعادل ٢-٥ ملغم فيتامين ج عن طريق البول خلال ٢٤ ساعة.
٩.	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.	استعداداً لإعادة التجربة وللحفاظ على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكتاب القادم

التحليل الكيميائي الآلي

**Instrumental Chemical
Analysis**

اختيار الموجة الضوئية في التحليل الطيفي

المبدأ :

تعتبر الموجة الضوئية مناسبة لقياس تركيز المركب إذا كانت امتصاصية مشتقاته للطاقة الضوئية عليها أعلى من امتصاصيتها على بقية الموجات وتتناسب طردياً مع التركيز على مدى يناسب القيم المتوقعة للعينات .

الأجهزة والأدوات والمواد اللازمة :

- ماصات زجاجية وصابغات أتوماتيكية .
- أنابيب اختبار .
- جهاز طرد مركزي عند الحاجة .
- حمام مائي بمنظم حراري عند الحاجة .
- المحاليل الكيميائية اللازمة لمعالجة المركب المستهدف في العينات بإجراءات كيميائية أو فيزيائية للحصول على أحد مشتقاته التي يمكن قياس امتصاصيتها .
- جهاز تحليل طيفي .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	استذكر جميع التعليمات الخاصة بالتجربة .	للتقيد بها أثناء تنفيذ الإجراءات المناسبة .
٢.	عالج حجم مناسب من المحلول القياسي بالاجراءات الكيميائية والفيزيائية حسب التعليمات المقترحة .	للحصول على محلول صافي لأحد مشتقات المركب المطلوب قياس تركيزه .
٣.	قم بقياس امتصاصية المحلول الناتج من الخطوة السابقة للطاقة الضوئية على جميع الموجات الضوئية من ٧٠٠-٤٠٠ مميكا بشكل تصاعدي	لتمثيل العلاقة بين طول الموجة الضوئية (المحور السيني) وامتصاصية المحلول للضوء (المحور الصادي) بخط بياني .
٤.	تفحص شكل الخط البياني وحدد الموجات الضوئية المقابلة لقم الخط البياني	لأن امتصاصية المحلول للطاقة الضوئية على القمم أعلى من امتصاصيته للطاقة الضوئية على بقية الموجات الضوئية الأخرى .
٥.	حضر عدد من المحاليل القياسية للمادة المطلوب قياس تركيزها بحيث تشمل أقل وأعلى تركيز للمادة متوقع ظهوره في العينات.	للتأكد من أن الموجة الضوئية المقترحة مناسبة لجميع القيم الممكن توقعها في العينات.
٦.	عالج المحاليل القياسية المحضرة في الخطوة السابقة بالاجراءات الكيميائية والفيزيائية حسب التعليمات المقترحة .	لتحضير محاليل مناسبة لمشتقاتها تمهيدا لقياس امتصاصيتها .

٧.	قم بقياس امتصاصية المحاليل الصافية لمشتقات المحاليل القياسية التي تم الحصول عليها على الموجات الضوئية المحددة بالخطوة الرابعة .	لتمثيل العلاقة بين تركيز المحاليل القياسية (المحور السيني) وامتصاصيتها للضوء (المحور الصادي) بخط بياني .
٨.	تفحص الخط البياني بامتصاصية المحاليل القياسية على الموجات الضوئية المحددة .	لاعتدال الموجة الضوئية التي يكون خط امتصاصية المحاليل القياسية عليها مستقيماً ويمر من قطرة الصفر ويغطي جميع القيم المتوقعة في العينات .
٩.	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد إلى أماكن حفظها .	استعدداً لإجراء التجربة مرة أخرى وللحفاظة على نظافة الموقع .

الكفاية العملية - ١٤٨ -

تحديد مدى القياس في تجارب التحليل الطيفي (Linearity)

الهدف :

أن يكون الطالب قادراً على تحديد مدى القياس (Linearity) في تجارب التحليل الطيفي.

المبدأ :

يقصد بمدى القياس في أي تجربة بأنه أعلى قيمة للناتج يمكن اعتمادها والوثوق بها دون الحاجة إلى إعادة التجربة على عينة مخففة مع الأخذ بعين الاعتبار معامل التخفيف عند حساب النتيجة.

الأجهزة والاموات والمواد اللازمة :

- مجموعة المحاليل اللازمة لقياس تركيز المركب من.
- ماصات أوتوماتيكية وأخرى زجاجية بسعات مناسبة.
- ١٠ محاليل قياسية للمركب من بحيث تكون متفاوتة التركيز بشكل تصاعدي ومنظم وتغطي كافة القيم المتوقعة ظهورها في العينات.
- أنابيب اختبار.
- حمام زيت مائي عند اللزوم.
- جهاز تحليل طيفي.
- جهاز طرد مركزي عن اللزوم.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	استذكر جميع التعليمات الخاصة بالتجربة.	التقيد بها أثناء تنفيذ خطوات التجربة.
٢.	رقم المحاليل القياسية من ١-١٠ بتركيز تصاعدي وطبق خطوات التجربة عليها.	الحصول على محاليل قياسية لأحد مشتقات المركب من يمكن قياس امتصاصيته للضوء.
٣.	استخدم جهاز التحليل الطيفي اللونى في قياس امتصاصية المحاليل الناتجة عن تطبيق خطوات التجربة على المحاليل القياسية.	لمقارنة تركيز المحاليل القياسية مع امتصاصيتها للضوء.
٤.	مثل العلاقة بين تركيز المحاليل القياسية وامتصاصيتها للضوء بخط بياني بحيث يثبت تركيز	لمعرفة طبيعة العلاقة بين تركيز المحلول وامتصاصيته للضوء.

	المحاليل على المحور السيني والامتصاصية على المحور الصادي.	
٥.	تعرف على شكل الخط البياني بعد انجازه في الخطوة السابقة.	لإعتماد نتائج التجربة المطابقة للجزء المستقيم منه كمدى القياس الخاص بالتجربة.
٦.	حدد تركيز المحلول القياسي الذي يتسابق قطرة انحناء الخط البياني.	لإعتماده كحد أعلى لمدى القياس وهو أعلى قيمة للنتيجة يمكن اعتمادها والوثوق بها دون الحاجة الى إعادة خطوات التجربة على العينة بعد تخفيفها بشكل مناسب.
٧.	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.	استعدادا لإجراء التجربة مرة أخرى وللمحافظة على نظافة الموقع السلامة والبيئة.

الكفاية العملية - ١٤٩ -

الاستشراب الورقي أحادي وثنائي الأبعاد

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على استخدام الاستشراب الورقي بنوعية أحادي وثنائي الأبعاد في فصل السكريات أو الأحماض الأمينية عن بعضها والتعرف على طبيعتها ونسبها المئوية.

المبدأ :

تتحرك المركبات المتشابهة مثل الأحماض الأمينية والسكريات عند مرورها ف وسط مسامي بواسطة تيار من سائل حامل لها بسرعات مختلفة. تعتمد على مدى علاقة كل منها مع الوسط الثابت أو الوسط المتحرك. يقوم المذيبولوز (المركب الرئيسي في ورق الترشيح) بدعم وتثبيت الوسط الثابت في نظم الاستشراب الورقي حيث يكون الوسط الثابت سائلا كما هو الحال في الاستشراب التوزيقي.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

• أوعية استشرابات ورقية محكمة الاغلاق ومناسبة الأبعاد (١٦×٢٠×٣٠سم).

• مستطيلات ورق ترشيح من نوع Whatman 1.3.4 طولها ٥٠ سم وبعرض يتناسب مع عدد العينات .

• مربعات ورق ترشيح من نوع Whatman 1.3.4 طول ضلعها ٥٠سم.
• محاليل فصل السكريات والأحماض الأمينية:

- | | |
|--|------------|
| A. n-Butanol-Acetic Acid-D. Water | (12/30/50) |
| B. n-Butanol-Pyridine-D. Water | (8/6/4) |
| C. Isopropanol-D. Water | (16/4) |
| D. Methanol-D. Water-Pyridine | (8/2/4) |
| E. Ethylmethylketone-Butanol-D. Water-Diethylamine | |
| (1/1/0.5/0.1) | |

• محاليل تحديد مواقع المركبات المفصلة:

أ. ١٠ أحجام من ١٠ ملل/لتر انيلين في الاسيتون + حجم حامض أورثوفوريك.

ب. ٥غم /لتر هيدروكسيد الصوديوم في الإيثانول.

ج. محلول نينهايدرين ٢غم/لتر بيوتنول-ن + ٥٠ ملل حامض الاميتيك المركز.

هـ. نترات النحاس - ٠.٢ ملل ١٠% حامض النيتريك + ١ ملل كبريتات نحاس مشبع + ١٠٠ ملل إيثانول.

• محاليل قياسية مرجعية من الأحماض الأمينية أو السكريات المختلفة.

• جهاز قياس كثافة ضوئية Densinometer.

• قلم رصاص - مسطرة.

١. الاستشراب الورق أحادي الأبعاد (Unidimention)

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	ضع أي من محاليل الفصل أ، ب في وعاء الاستشراب الموجود فوق سطح أفقي بعمق ١,٥ سم وأغلقه بإحكام لما لا يقل عن ٥ دقائق.	لتوفير اتزان بين محاليل الفصل في أسفل الوعاء وضغطها البخاري.
٢.	أرسم خطا خفيفا مستقيما وموازيا للحافة الضيقة لمستطيل ورق الترشيح وتبعد عنها مسافة ٤ سم وقسمه إلى أجزاء بنقط تبعد عن بعضها مسافة ٣ سم.	لاستخدام النقط بين أجزاء الخط المستقيم كمواقع انطلاق العينات المختلفة حسب أرقامها.
٣.	رقم عينات البلازما أو عينات البول المطلوب التعرف على الأحماض الأمينية أو السكريات الموجودة بها.	لتمييزها عن بعضها وتحديد مواقعها في ورقة الترشيح.
٤.	ضع ١٠ ميكال من خليط الأحماض الأمينية القياسية أو السكريات القياسية فوق أول وآخر قطرة .	لتنشيط المحاليل المرجعية في مواقعها لمقارنة مواقع مكوناتها مع مواقع مكونات العينات المختلفة بعد استكمال زمن الاستشراب.
٥.	ملط على كل قطرة تيار هوائي ماسخن أو اتركها بدرجة حرارة الغرفة الزمن الكافي.	كي تحف العينات والمحاليل.
٦.	كرر الخطوات ٤ و ٥ مرة أخرى عند اللزوم.	لزيادة تركيز المركبات المطلوب فصلها (سكريات أو أحماض ميبينه) في بعض العينات وبالتالي يسهل تحديد مواقعها وقياس امتصاصيتها للضوء.
٧.	كرر الخطوات ٤ و ٥ مع جميع العينات كل في موقعها حسب رقمها.	لتنشيط العينات في مواقع انطلاق استشرابها على ورقة الترشيح.
٨.	ثبت ورقة الترشيح داخل وعاء الاستشراب بشكل مستوي وعمودي بحيث تغمس حافتها القريبة من والموازية لخط نقط انطلاق العينات في محلول الفصل واترك الوعاء محكم الإغلاق في وضعه الأفقي فترة من الزمن (١٦-٢٠ ساعة) تكفي لإقتراب مقدمة محلول الفصل من حافة ورقة الترشيح العليا.	لإستشراب أكبر كمية من محاليل الفصل في مسامات ورقة الترشيح بفعل محصلة القوى بين الخاصية الشعرية والجاذبية الأرضية وبالتالي فصل مكونات العينة عن بعضها بسبب حركتها مع تيار محلول الفصل بسرعات مختلفة.

٩.	أغصص ورقة الترشيح في محلول نترات الفضة لمدة دقيقة واحدة وجففها بتيار هواء ساخن ومن ثم اغصصها في محلول هيدروكسيد الصوديوم وجففها مرة أخرى بالهواء الساخن في حالة فصل السكريات أو أغصص ورقة الترشيح في محلول نينها يدرين لمدة دقيقة واحدة وجففها ومن ثم اغصصها في محلول نترات النحاس في حالة فصل الأحماض الأمينية.	لتحديد مواقع السكريات أو الأحماض الأمينية بعد فصلها عن بعضها في ورقة الترشيح عن طريق تحويلها إلى مشتقاتها الملونة والتي تظهر دائرة إذا كانت تمثل مركبا نقييا وبيضاوية (طويلة) إذا كانت تمثل أكثر من مركب.
١٠.	قم بقياس المسافة التي قطعها مقدمة محاليل الفصل والمسافات التي قطعها مراكز المواقع الجديدة للمركبات المفصولة من خط الانطلاق للعينات التي ظهرت جميع مواقع مكوناتها دائرة بشكل منتظم، أما العينات التي ظهرت بعض مكوناتها بيضاوية (مستطيلة) فاعمل على إعادة فصل مكوناتها بالإستشراب الورقي ثنائي الاتجاه.	لحساب معامل فصل (RF) المركبات المختلفة والذي يساوي نسبة المسافة التي قطعها مركز أي مركب إلى المسافة التي قطعها مقدمة محلول الفصل من خط الانطلاق.
١١.	قارن بين معاملات فصل مركبات كل عينة ومعاملات فصل العينات القياسية المرجعية.	لتحديد هوية مركبات العينة التي تم فصلها عن بعضها.
١٢.	مرر مركز موقع كل مركب مفصول في مسار ضوء جهاز قياس الامتصاصية.	لقياس امتصاصية المركب المفصول مع امتصاصه ورق الترشيح للضوء T.
١٣.	مرر أي بقعة في ورقة الترشيح تعرضت لمحاليل الفصل ويعودا عن مواقع المركبات المفصولة في مسار الضوء في جهاز قياس الامتصاصية.	لقياس امتصاصية ورقة الترشيح (F).
١٤.	أطرح الامتصاصية F من الامتصاصية T.	لمعرفة امتصاصية كل مركب للضوء واستخدامها في حساب نسبته المئوية عن طريق ضرب النسبة بين امتصاصيته للضوء

ومجموع امتصاصية جميع المركبات المفصولة في ١٠٠.		
استعداد لإعادة التجربة وللحفاظ على نظافة الموقع وسلامة البيئة.	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمسود التي أماكن حفظها.	١٥.

ب. الاستشراب الورقي ثنائي الأبعاد

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	ضع أي من محاليل الفصل أعب في وعاء الاستشراب الموجودة على سطح أفقي بعمق ١,٥ سم وأغلقه بإحكام لمدة خمس دقائق على الأقل.	لتوفير الإيزان بين محاليل الفصل في أسفل الوعاء وضغطها البخاري.
٢.	أرسم خطين مستقيمين ومتعامدين قرب إحدى زوايا ورقة ترشيح مربعة بحيث يبعد كل خط عن ضلع الزاوية الموازي له مسافة ٤ سم وجهاز ورقة ترشيح مربعة أخرى للعينة القياسية المرجعية.	لاعتقاد قطرة تقاطع الخطين المتعامدين موقع انطلاق العينة التي لوحظ بعد تعريضها للاستشراب أحادي الاتجاه بأن موقعها بوضوياً وليس دائرياً لأنها تمثل أكثر من مركب معاملات فصلها متقاربة.
٣.	ضع ١٠ ميكل من العينة المطلوب فصلها في قطرة الإطلاق بواسطة ماصة أو توماتيكية وملط عليها تيار هواء ساخن كرر نفس الخطوة عند اللزوم.	لتثبيت مكونات العينة في موقع الإطلاق عن طريق تجفيفها وزيادة تركيزها إذا كانت مخففة.
٤.	ثبت ورقة الترشيح داخل وعاء الاستشراب الأفقي بشكل عمودي ومستوى بحيث تغطي حافتها القريبة والموازية لأحد الخطين المتعامدين في محلول الفصل وأترك الوعاء محكم الإغلاق في وضعه الأفقي فترة من الزمن (١٦ - ٢٠ ساعة) تكفي لإقتراب مقدمة محلول الفصل من الحافة الموازية العليا لورقة الترشيح بمسافة لا تقل عن ٥ سم.	لاستشراب أكبر كمية من محلول الفصل في ممامات ورقة الترشيح بفعل محصلة القوى بين الخاصية الشعرية والجاذبية الأرضية وبالتالي فصل مكونات العينة عن بعضها بسبب حركتها مع تيار محلول الفصل بسرعات مختلفة.
٥.	إفصح وعاء الاستشراب وأخرج ورقة الترشيح وأضغطها بين ورقتين متماثلتين وحدد موقع	للتخلص مما يحمله من محاليل الفصل وتثبيت المركبات المفصولة في

	مقدمة محلول الفصل بالرمضان ومن ثم عرضها التبار هواء ملأخ.	مواقعها الجديدة بتجفيفها.
٦.	أعد تثبيت ورقة الترشيح في وعاء استشراب آخر في أسفله محلول فصل آخر (ج، د، هـ ...) بشكل مستوي وعمودي بحيث تغمس حافتها القريبة والموازية للخط المستقيم الثاني في محلول الفصل وأترك الوعاء في وضعه الأفقي محكم الإغلاق لمدة (١٦-٢٠ ساعة) تكفي لاقتراب مقدمة محلول الفصل من الحافة العليا لورق الترشيح بمسافة لا تقل عن ١١ سم.	لاستشراب أكبر كمية من محاليل الفصل بفعل محصلة القوى بين الخاصية الشعرية والجاذبية الأرضية باتجاه عمودي لاتجاه استشراب محلول الفصل الأول وبالتالي تحريك مكونات العينة بسرعات تختلف عن سرعات حركتها في الاستشراب الأول.
٧.	نفذ خطوات ١٠ و ١١ الخاصة بالاستشراب الورقي أحادي الأبعاد.	لتحديد المواقع الجديدة لمكونات العينة.
٨.	قم بقياس المسافة التي قطعها مقدمات محلول الفصل ومكونات العينة ومركبات العينة القياسية من خطي انطلاقها في كل مرحلة على حدة.	لحساب معامل فصل (Rf_1 و Rf_2) لكل من المركبات المفصولة وفي العينة القياسية.
٩.	قارن بين معاملات الفصل الخاصة بمركبات العينة ومعاملات الفصل الخاصة بمركبات العينة القياسية المرجعية.	لتحديد هوية مركبات العينة التي تم فصلها عن بعضها.
١٠.	نفذ الخطوات ١٢ و ١٣ و ١٤ و ١٥ الخاصة بالاستشراب الورقي أحادي الاتجاه.	لمعرفة النعومة المنوية لكل مركب في العينة استعدادا لإعادة التجربة وللحفاظ على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية - ١٥٠ -

تحضير وحدة الترحيل الكهربائي بهلام الأجار

الهدف :

أن يكون الطالب قادراً على تحضير وحدة الترحيل الكهربائي بهلام الأجار وملحقاتها كي يمكن استخدامها في فصل البروتينات ومشتقاتها في أي وقت عند الحاجة.

المبدأ :

يتم تحضير محلول الأجار أو الأجاروز عن طريق التسخين في المحلول المنظم المنوي استخدامه في عملية الترحيل الكهربائي للبروتينات أو مشتقاتها ويسكب في خلية الترحيل لتحضير دعائم الأجار وحول الشرائح الزجاجية لتحضير شرائح هلام الأجار.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- مسحوق أجار أو أجاروز.
- محلول منظم قلوي برقم هيدروجيني ٨,٤-٨,٦ (منظم الباربيتون أو البورات).
- أو محلول منظم حامض برقم هيدروجيني ٦-٦,٥ (منظم الفسفات المسترات).
- دوارق كروية أو مخروطية سعة ٥٠٠ ملل.
- شرائح زجاجية يزيد طول أحد بعديها قليلاً عن عرض حجرة الوسط الناقل في الخلية.
- أطباق بقواعد مستوية ومحكمة الأغلاق (مثل أطباق بستري).
- ميزان
- سخان كهربائي.
- خلية ترحيل كهربائي.

أ. تحضير دعائم الأجار في خلية الترحيل الكهربائي

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	تفحص خلية الترحيل الكهربائي بهلام الأجار.	للتعرف على حجراتها الطولية والمتوازية وهي كما يلي: ٥.١ حجرات الأقطاب الكهربائيّة البلاستيكية أو الكربونية وهي في نفس الوقت حجرات المحاليل

<p>المنظمة والتي تفصلها عن حجرات دعائم الأجار ٢ و٤ حواجز مسامية أو غير كاملة في حين تفصل حجر دعائم الأجار عن الحجرة الوسطى (٣) حواجز متواصلة وغير مسامية تستخدم الحجرة ٣ للوسط الناقل وهي أكثر سعة من بقية الحجرات.</p>		
<p>لقياس سعة الحجرات الأربعة المشار لها.</p>	<p>أملأ الحجرات ١ و٢ و٤ و٥ بالماء المقطر ومن ثم اسكب الماء المقطر في مخبر مدرج.</p>	<p>٢.</p>
<p>لتحضير محلول ٢% هلام الأجار في المحلول المنظم والالزم لتحضير دعائم الأجار في الحجرات ٢ و٤ والمقاوم للنمو الفطري والجراثيمي.</p>	<p>أحسب وزن كمية مسحوق الأجار اللازمة لتحضير كمية ٢% من محلوله بحيث تزيد ١٠٠ ملل عن سعة الحجرات ١ و٢ و٤ وأنبها بالتسخين في الحجم المطلوب من المحلول المنظم الذي يحتوي على ٠,٠٥ من Podium Azide</p>	<p>٣.</p>
<p>للحصول على دعائم أولية صلبة من ٢% هلام الأجار.</p>	<p>أملأ الحجرات ١ و٢ و٤ و٥ بمحلول ٢% هلام الأجار الساخن عندما تكون خلية الترحيل الكهربائي في وضع الفتي بحيث سطح الأجار عن حافة الحواجز الفاصلة بين الحجرات ٢ و٤ عن الحجرة ٣ بفعل خاصية التوتر السطحي وتركه حتى يتجمد بدرجة حرارة الغرفة.</p>	<p>٤.</p>
<p>لملئ حجرات الأقطاب بالمحلول المنظم المستخدم في تحصيل دعائم الأجار وفي الترحيل الكهربائي.</p>	<p>استخدام مكينا أو شوطا في تفريغ حجرات الأقطاب ٥ من هلام الأجار الصلب.</p>	<p>٥.</p>
<p>لتثبيت الوسط الناقل عليها ومنع إنزلاقه أثناء عملية الترحيل.</p>	<p>ضع على سطحي دعائم الأجار في الحجرات ٢ و٤ ورق ترشيح تناسب أبعادها.</p>	<p>٦.</p>
<p>لمنع جفاف وتقلص دعائم الإجار أثناء حفظها استعدادا لاستخدامها في الترحيل الكهربائي عند الحاجة.</p>	<p>أملأ حجرات الأقطاب بالمحلول المنظم بحيث لا يتجاوز سطحه دعائم الإجار إلى حجرة الوسط الناقل ٣ وأغلق غطاء الخلية بإحكام.</p>	<p>٧.</p>

ب. تحضير الوسط الناقل الخاص لترحيل الكهربيته بهلام الأجار

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	قرر بناءاً على حجم العمل وعدد العينات عدد شرائح الأخبار المراد تحضيرها.	لمعرفة حجم محلول ١% هلام اجار اللازم لتحضير شرائح الاجار.
٢.	أحسب وزن كمية الأجار اللازمة لتحضير الحجم اللازم من محلول ١% اجار وأنبها بالتمخين في الحجم المطلوب من المحلول المنظم الذي يحتوي على ٠,٠٥% Sodium Azide.	لتحضير محلول ١% هلام الاجار السائل والخالى من الفقاعات الهوائية والمقاوم للنمو الفطري والجرثومي.
٣.	وزع عددا كافيا من الأطباق على سطح أفقي واسكب فيها من محلول ١% هلام الأجار الساخن ما يكفي ليغمر قواعدها وأتركها في هذا الوضع حتى اكتمال تحضير الشرائح.	لضمان وجود سطوح أفقية تحمل الشرائح الزجاجية.
٤.	ثبت فوق سطح طبقة الأجار في قواعد الأطباق بعد انجمادها العدد المناسب من الشرائح الزجاجية وأغمرها بطبقة من محلول ١% هلام اجار ساخن وخالى من الفقاعات ويرتفع سطحه عن سطح الشرائح الزجاجية بـ ١-٢ ملم وأترك الأطباق في مكانها دون حراك حتى انجماد هلام الاجار.	لضمان وجود طبقة هلام ١% اجار متجمدة بمسك ثابت ومنتظم (١-٢ملم) فوق سطح الشرائح الزجاجية.
٥.	أغلق أطباق هلام الأجار بشكل محكم واحفظها بدرجة ٤م أو بدرجة حرارة الغرفة مقلوبة لمدة غير محدودة.	لمنع جفافها ولمنع تجمع البخار على غطاء الأطباق.
٦.	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد التي أمكن حفظها.	استعدادا لإعادة التحضير وللحفاظ على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية - ١٥١ -

الترحيل الكهربائي للبروتينات ومشتقاتها

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على فصل البروتينات ومشتقاتها كالأنزيمات والهيوموجلوبينات والبروتينات الدهنية والنفسوية عن بعضها بواسطة الترحيل الكهربائي.

المبدأ :

عند وجود عدد من البروتينات في وسط ما فإن بعضها يحمل شحنات كهربائية موجبة وبعضها الآخر سالبة أو متعادلة حسب علاقة الرقم الهيدروجيني للوسط مع الرقم الهيدروجيني الخاص بمتعادلهما الكهربائي. لذا فإنها تتحرك بسرعات مختلفة نحو القطب الموجب أو السالب عند تعرضها لتيار كهربائي مباشر أو تبقى ساكنة حسب طبيعة وقوة الشحنة الكهربائية التي تحملها جزيئات البروتين. يصنف الترحيل الكهربائي بناءا على طبيعة الوسط الناقل الى أنواع مختلفة مثل الترحيل الكهربائي باميتات المسيلولوز والترحيل الكهربائي بهلام الاجار السخ. تحدد مواقع البروتينات بعد فصلها عن بعضها بالصبغات المناسبة أو التفاعلات الكيميائية المناسبة.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- مصدر تيار كهربائي مباشر.
- خنية ترحيل كهربائي تتناسب للوسط الناقل (هلام الاجار).
- اوساط ناقلية (شرائح هلام الاجار أو اميتات المسيلونوز).
- محاليل منظمة بارقام هيدروجينية مناسبة (٨,٤ مثلا).
- محاليل تحديد مواقع البروتينات المفصولة (صبغة بروموفينول الزرقاء)
- محاليل غسل الأوساط الناقل > (حامض الاميتك ٥%).
- أدوات تثبيت العينات في مواقع الانطلاق في الوسط الناقل (تشمل ملاقط بلاستيكية ومسطحات ورق ترشيح ١×٥ ملم
- مشارط حادة لانتزاع شرائح الاجار.
- احواض صبغ وغسل الأوساط الناقلية.
- جهاز لقياس امتصاصية للضوء (Densinometer).

أ. فصل بروتينات المصل بالترحيل الكهربائي بهلام الأجار

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	أملأ حجرات الأقطار في خلية الترحيل بالمحلول المنظم وأعد الغطاء إلى موقعه لمدة لا تقل عن ٥ دقائق.	للوصول إلى اتزان بين المحاليل المنظمة وضغطها البخاري.
٢.	أقطع بواسطة المشروط وسط الأجار بمحاذاة حواف الشرائح الزجاجية واستخدم المشروط في نزاعها من الأجار.	للحصول على شرائح الأجار المحضرة في المحلول المنظم كوسط ناقل.
٣.	أقطع حواف شريحة هلام الأجار بقطع منتظم وبعمق ١ ملم ولبتر إحدى الزوايا بعمق ١ ملم وتخلص من هلام الأجار المقطوع.	لتسهيل التعامل مع شرائح الأجار بواسطة اليد من خلال حواف الشرائح الزجاجية دون لمس الأجار والاستخدام الزاوية المبتورة لتحديد موقع العينة الأولى في شريحة الأجار.
٤.	قم بإحداث قطع طوله ٥ ملم في عدة مواقع على خط مستقيم مواز لأحدى الحواف ويبعد عنها مسافة تساوي ٤ أضعاف بعده عن الحافة المقابلة بحيث يبعد كل موقع عما يجاوره مسافة اسم.	لاستخدام القطع في تثبيت قطع ورق الترشيح الطويلة المشبعة بالعينات.
٥.	أغصن مستطيلات أوراق الترشيح طولها ٥ ملم وعرضها سمك شرائح الأجار (١ ملم) بواسطة ملقط في العينة وارفعها في الهواء حتى تجف قليلا وتصبح مرطبة بالعينة.	لتثبيت كميسة العينة المستخدمة في الترحيل ولزيادة حدة الفصل بين البروتين ولانقاص زمن الترحيل.
٦.	أغرز مستطيلات ورق الترشح مرطبة بالعينات في مقاطعها المناسبة حسب رقم العينة بحيث ترقم العينة القريبة من الزاوية المبتورة برقم ١.	لتثبيت العينات في مواقعها في شرائح الأجار.
٧.	أفتح غطاء خلية الترحيل بهلام الأجار وضع الشرائح داخلها مقلوبة بحيث يلامس هلام الشرائح ورق الترشح الذي يغطي دعائم الأجار في الخلية على أن تكون العينات أقرب إلى القطب السالب ثم أعد غطاء الخلية.	لتثبيت الواسط الناقل الذي يسمح باكتمال الدورة الكهربائية بين القطبين ولتوفير أكبر مسافة يمكن أن تقطعها بروتينات العينة نحو القطب الموجب لأنها تحمل شحنات سالبة عندما

٨.	أوصل التيار الكهربائي المباشر بقوة مناسبة ولفترة زمنية مناسبة (٧ أمبير /سم لمدة ٢٠-٣٠ دقيقة) تعتمد قوة التيار وزمن وصله على أبعاد الخلية والوسط الناقل).	يكون الرقم الهيدروجيني للوسط الناقل ٨.٤.
٩.	أفصل التيار الكهربائي المباشر بعد انقضاء زمن الترحيل.	لتحريك بروتينات المصبل باتجاه القطب الموجب بمرعات مختلفة لأنها تحمل شحنات سالبة.
١٠.	أنقل شرائح الأجار من خلية الترحيل إلى حوض الصبغة (صبغة Bromopenol Blue) بعد نزع مستطيلات ورققات الترشيح من مواقعها وتركها لما لا يقل عن ساعتين.	لايقاف حركة البروتينات بعد فصلها عن بعضها على مدى ما يسمح به طول الوسط الناقل.
١١.	أنقل شرائح الأجار من حوض الصبغة إلى حوض الغسيل (٥٠% حامض الأمينيك) لمدة ساعتين.	لتنشيط البروتينات في مواقعها وتحديد تلك المواقع عن طريق مفاعلة البروتين الصبغة.
١٢.	أخرج شرائح الأجار وضعها فوق ورقة ترشيح على سطح مستو وضع فوقها شريحة زجاجية ضاغطة وتركها لمدة ساعة بدرجة حرارة الغرفة.	لتخليص الوسط الناقل من الصبغة الفائضة عن حاجة التفاعل مع البروتينات.
١٣.	أفصل الشريحة الزجاجية التي تحمل الوسط الناقل عن ورقة الترشيح وتركها لمدة ساعة بدرجة حرارة الغرفة.	لطررد معظم ماء الوسط الناقل إلى ورقة الترشيح وتنشيط الوسط الناقل على شكل طبقة دقيقة جدا على سطح الشريحة الزجاجية لتدعيمه.
١٤.	أفصل الشريحة الزجاجية التي تحمل الوسط الناقل عن ورقة الترشيح وتركها لمدة ساعة بدرجة حرارة الغرفة.	كسي يتم التخلص من ماء الوسط الناقل بشكل كامل.
١٥.	أفصل الشريحة الزجاجية التي تحمل الوسط الناقل عن ورقة الترشيح وتركها لمدة ساعة بدرجة حرارة الغرفة.	للتعرف على أنواع البروتينات التي تم فصلها عن بعضها.
١٥.	قم بسمح شامل لجميع البروتينات المفصولة بواسطة جهاز قياس الامتصاصية الضوئية بإدخال	لقياس امتصاصية كل بروتين للضوء (A) ومعرفة نسبته المتوقعة

<p>بالنسبة لبقية البروتينات كما يلي: <u>امتصاصية البروتين $\times 100$</u> <u>مجموع امتصاصية البروتينات</u></p>	<p>الشريحة الزجاجية بمساحة ثابتة ومنتظمة في المعيار الضوئي.</p>	
<p>لمعرفة تركيز كل بروتين من بروتينات المصل (البومين وجلوبولين ألفا وبيتا وجاما) على حدة بضرب النسبة المئوية للبروتين في تركيز جميع بروتينات العينة.</p>	<p>قم بقياس تركيز جميع البروتينات في العينة بطريقة بايورييت Biuret.</p>	١٦.
<p>استعدادا لإعادة التجربة وللحفاظ على نظافة الموقع وسلامة البيئة.</p>	<p>نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد إلى أماكن حفظها.</p>	١٧.

الكفاية العملية - ١٥٢ -

استخدام التحليل الطيفي اللوني

(Colorimetric Spectrophotometry)

في قياس تركيز كل من الجلوكوز والبروتين والكوليستيرول

والجليسيريدات الثلاثية والبولينا والبتليرويين وحامض البوليك والكلور

والكاليسيوم والحديد والهيموجلوبين والكريتينين والفسفور ... الخ

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على استخدام طرق التحليل الكيميائي الطيفي اللوني في قياس تركيز المركبات المشار إليها اعلاه في سوائل الجسم المختلفة مثل المصل أو البول وسوائل للنخاع الشوكي وسوائل الأغشية الداخلية.

المبدأ :

تعالج أحجام متساوية من الماء المقطر والمحلول القياسي والعينة بعدد من الاجراءات الكيميائية والفيزيائية اللازمة للحصول على محلول صافي لأحد المشتقات الملونة للمركب المطلوب قياس تركيزه بحيث يمكن قياس امتصاصيته للضوء بجهاز التحليل الطيفي.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- جهاز التحليل الطيفي اللوني.
- ماصات زجاجية وماصات أوتوماتيكية.
- أنابيب اختبار نظيفة وجافة.
- جهاز طرد مركزي (عند الحاجة).
- حمام مائي بمنظم حراري (عند الحاجة).
- المحاليل الكيميائية اللازمة لمعالجة المركبات المطلوب قياس تركيزها في العينات بإجراءات كيميائية أو فيزيائية للحصول على أحد المشتقات التي يمكن قياس امتصاصيتها.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	استذكر جميع التعليمات الخاصة بالتجربة (النشرة).	للتقيد بها أثناء تنفيذ الاجراءات المناسبة.

٢.	أوسم أنابيب اختبار مناسبة نظيفة وجافة بعدد العينات ١-٢-٣... الخ وأوسم أنبوبة بالحرف B للبلاستيك وأخرى بالحرف S للمحلول القياسي.	لاستخدامها في معالجة العينات والمحلول القياسي بالاجراءات الكيميائية والفيزيائية حسب التعليمات.
٣.	عالج احجام متساوية من العينات والمطول القياسي والماء المقطر (بلاستيك) بالاجراءات الكيميائية والفيزيائية حسب التعليمات في أنابيبها.	للحصول على محلول صافي لاجد المشتقات الملونة للمركب المطلوب قياس تركيزه الذي يمكن قياس امتصاصيته للضوء.
٤.	أوصل التيار الكهربائي لجهاز التحليل الطيفي.	لتزويده بالطاقة الضوئية اللازمة.
٥.	قم باختبار الموجة الضوئية حسب التعليمات.	لتناسب الطاقة الجزيئية الداخلية للمشتقات الملونة للمادة المطلوب قياس تركيزها.
٦.	قم باختبار الامتصاصية كوظيفة لجهاز التحليل الطيفي.	تمهيدا لقياس الامتصاصية للعينات والمحلول القياسي.
٧.	اغسل أنبوبة الجهاز (الكوفيت) بالماء المقطر ومن ثم بقليل من محلول البلاستيك بدون لمسها من نصفها السفلي.	للتأكد من نظافة الأنبوبة وعدم تراكم اية رواسب خارجية قد تعيق مرور الضوء.
٨.	أملأ الكوفيت حتى نصفها بمحلول البلاستيك بعيدا عن الجهاز وتجنب تدفق المحلول خارج الفتحة وضعها في الجيب الخاص بها في جهاز التحليل واغلق غطاءه.	لتعريض سطح المحلول للطاقة الضوئية المناسبة بشكل عمودي بدون أي تدخل من الرواسب الخارجية على سطح الكوفيت ولتجنب تدفق المحاليل على الجهاز.
٩.	اضبط صفر الامتصاصية عندما يكون محلول البلاستيك في أنبوبة الجهاز.	للتخلص من امتصاصية المحاليل المستخدمة في معالجة العينات والمحاليل القياسية.
١٠.	فرغ الأنبوبة من محلول البلاستيك واملاها حتى النصف بالمحلول القياسي كما في الخطوة (٨) بعد غسلها بقليل منه واقراء امتصاصيته للضوء.	للتأكد من صلاحية المواد والأدوات واسـتخدام الامتصاصية في عمليات الحساب أحيانا.
١١.	قم بقياس الكثافة الضوئية للعينات حسب ترتيبها بنفس طريقة قياس الكثافة الضوئية للمحلول القياسي.	لمقارنة امتصاصية عينة على حدة مع امتصاصية المحلول القياسي بواسطة

<p>معادلة قانتون لامبيرت وبير التطبيقية التالية:</p> $C_t = \frac{A_b \cdot t}{A_b \cdot s} \times C_s$ <p>حيث C_t = تركيز العينة و $A_b \cdot t$ = امتصاصها للضوء و C_s تركيز المحلول القياسي و $A_b \cdot s$ = امتصاصيته للضوء.</p>		
<p>للمحافظة عليه وتسهيل تنظيفه عند الحاجة.</p>	<p>نظف الكوفيت بالماء المقطر وجففه من الخارج واعدده الى جيبه وافصل التيار الكهربائي.</p>	١٢.
<p>تمهيدا لاعادة التجربة على عينات اخرى وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.</p>	<p>نظف الأسابيب والأدوات الزجاجية المستخدمة وموقع العمل وتخلص من العينات بالطريقة المناسبة بعد اعتماد النتيجة واعد المحاليل الى التلاجة.</p>	١٣.

الكفاية العملية - ١٥٣ -

استخدام التحليل الطيفي الفعال (Kinetic Spectrophotometry)

(Monotest) في قياس نشاط انزيمات (Phosphatase, ASA, ALA,)

(CPK, LDH... الخ)

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على قياس نشاط انزيمات G6PD ALA, CPK, LDH, ASA, Phosphatase... الخ باستخدام التحليل الكيميائي الطيفي الفعال.

المبدأ :

يستخدم معدل التزايد أو التناقص في امتصاصية NADH للأشعة فوق البنفسجية في الدقيقة الواحدة خلال الدقائق الخمس الأولى من القياس نشاط الأنزيم دون الحاجة إلى إيقافه.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- ماصات اوتوماتيكية بسعات مناسبة.
- جهاز تحليل طيفي يوفر موجات ضوئية فوق بنفسجية ٣٨٠-٣٤٠ ميمك.
- مجموعة المواد والمحاليل الأولية اللازمة.
- حمام مائي.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	استرجع التعليمات الخاصة بالتجربة.	لتتفقد الاجراءات اللازمة لقياس نشاط الانزيم.
٢.	عالج المواد الأولية بالطريقة الموضحة بالتعليمات.	كي تصبح مناسبة لتنفيذ الاجراءات اللازمة لقياس نشاط الانزيم.
٣.	اختار الموجة الضوئية فوق البنفسجية (u.v) المناسبة وحدد وظيفة الجهاز بقياس الكثافة الضوئية (الامتصاصية).	لأن امتصاصية (NADH) الذي يتغير تركيزه أثناء ممارسة الانزيم لنشاطه للطاقة الضوئية اعلى ما تكون على (u.v).
٤.	اضبط صفر الكثافة الضوئية على الماء	لأن سرعة التفاعل الذي

	المقطر أو الهواء.	ينظمه الانزيم المطلوب قياس نشاطه لا تتأثر بامتصاصية المحاليل المستخدمة في التجربة.
٥.	اضف حجم مناسب من العينة بواسطة الماصة الأوتوماتيكية الى الحجم المناسب من محلول اللقيم والمطوّل المنظم المحضّر من المحاليل والموّل الأولية وقم بقياس الامتصاصية بعد فترة حضّانة بدرجة الحرارة المناسبة لمدة تقدر بـ ٠,٥ - ٣ دقائق وبعد دقيقة ودقيقتين وثلاث دقائق من القراءة الأولى.	لمعرفة معدل التغير في الإمتصاصية في الدقيقة الواحدة والتي تناسب طردياً مع سرعة التفاعل الذي ينظمه الانزيم وبالتالي مع نشاطه عندما يكون التفاعل في أعلى سرعة له.
٦.	احسب معدل التغير في الكثافة الضوئية في وحدة الزمن بالدقائق A واستخدمه في حساب نشاط الانزيم من الجدول المرفقة أو بضربه بالمعامل الموضح في التعليمات.	لأن نشاط الانزيم يتناسب تناسباً طردياً مع معدل التغير في الامتصاصية (الكثافة الضوئية) في وحدة الزمن (الدقيقة).
٧.	اعد الخطوات الخامسة والسادسة على جميع العينات بشكل فردي.	لمعرفة نشاط الانزيم في بقية العينات.
٨.	ارجع المحاليل المعالجة الى صندوقها واحفظها في الظروف المناسبة ونظف انبوبة القراءة والفصل التيسار ونظف مكان العمل وتخلص من العينات بعد اعتماد النتيجة.	تمهيدا لاعادة التجربة عند اللزوم وللحفاظ على نظافة الموقع والادوات ومــــلامة البيئة.

الكفافية العملية - ١٥٤ -

استخدام جهاز التحليل اللهبى القاذف

(Emission Flamephotometry)

في قياس تركيز كل من الصوديوم والبوتاسيوم والليثيوم ... الخ

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على استخدام اجهزة التحليل اللهبى القاذفة في قياس تركيز أي من ايونات الصوديوم والبوتاسيوم والليثيوم ... الخ في سوائل و اقرازات الجسم.

المبدأ :

تتبع ذرات العناصر كى تستعيد استقرارها بعد أن تفقده بفعل الاحتراق فوتونات خاصة بها تقاس بواسطة جهاز قياس لطاقة الضونية. تفقد ذرات العناصر استقرارها عندما تحترق بعد أن يفقد رذاذ محاليلها الماء داخل اللهب.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- الادوات الزجاجية من ماصات ودوارق مناسبة مفسولة بالماء المقطر او الماء الخالي من الايونات المعدنية .
- محلول قياسي او مرجعي لايونات الصوديوم والبوتاسيوم والليثيوم .
- كمية وافرة من الماء المقطر او الماء الخالي من الايونات المعدنية .
- جهاز تحليل لهبى قاذف مع ملحقاته من الكؤوس لتغذية الجهاز بالسوائل .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	خفف العينات والمحاليل القياسية بنفس النسبة المناسبة (١٠٠:١) بمحلول التخفيف المناسب او الماء المقطر .	لاتنقص لزوجة عينات المصل او البلازما تسهيلات مرورها من القنوات الشعرية .
٢.	اوصل التيار الكهربائى والهواء المضغوط اولا ومن ثم غاز الاحتراق وقد اللهب بضغطة للقاذفة الكهربائىة المزود بها الجهاز .	للحصول على لهب كامل الاحتراق بواسطة تنظيم نسبة الغاز الى الهواء المضغوط .

٣.	زود الجهاز بالماء المقطر بشكل دائم.	لتطهير القنوات الداخلية ومنع ترسب الاملاح داخلها.
٤.	تأكد من احتراق اللهب بشكل كامل عن طريق تنظيم سرعة دخول الهواء المضغوط وغاز الاحتراق الى الجهاز وروية اللهب الأزرق من خلال الفتحة المخصصة .	لتوفير الظروف المناسبة لتحويل العينة الى رذاذ يحترق وبالتالي عدم استقرار ذرات العناصر واثماعها للفوتونات لاستعادة استقرارها.
٥.	اختيار الموجة الضوئية المسموح بمرورها بواسطة المرشح الخاص بالجهاز .	كي تتاسب العنصر المطلوب قياس تركيزه.
٦.	استبدال الماء المقطر بمحلول تخفيف العينة اذا كان غير ماء مقطر واضبط المؤشر على صفر لوحة التدرج .	لمعايرة جهاز التحليل اللهبى لقياس العنصر المناسب .
٧.	استبدال محلول التخفيف بالمحلول القياسي المخفف بعد غسل القنوات بالماء المقطر واضبط مؤشر القراءة المناسبة (١٠٠) في لوحة التدرج.	لاستكمال معايرة الجهاز تمهيدا لاستخدامه في قياس تركيز العنصر المناسب .
٨.	استبدال المحلول القياسي المخفف بمحاليل العينات المخففة بالتسلسل بحيث يتم تغذية الجهاز بالماء المقطر بين المحلول السابق والمحلول اللاحق واقرأ موقع المؤشر على لوحة التدرج لكل عينة على حدة .	لمعرفة كثافة الفوتونات التي تشعها كل عينة على حدة دون تلوثها بالمحاليل السابقة لها في الترتيب .
٩.	اعدد الخطوات ٥-٨ عند الحاجة لقياس تركيز عنصر اخر في العينات السابقة.	لمعرفة كثافة الفوتونات التي تشعها بقية لعناصر في العينات السابقة كل على حدة.
١٠.	استمر بالتغذية بالماء المقطر لمدة خمس دقائق بعد انتهاء قراءة موقع المؤشر لجميع العينات ولجميع العناصر المطلوب قياس تركيزها.	للتخلص من اثار المحاليل التي زود الجهاز بها ومنع ترسب املاحها للاحتفاظ بالقنوات سالكة.
١١.	افصل غاز الاحتراق واستمر بتزويد الجهاز بالهواء المضغوط حتى اختفاء اللهب من الموقد	لتجنب تراكم غاز الاحتراق داخل قنوات الجهاز والموقد لمنع حدوث احتراق عند اعادة استخدام الجهاز

	ومن ثم الفصل التيار الكهربائي وضع غطاء الجهاز.	في المرات القادمة .
١٢.	نظف الادوات الزجاجية وكؤوس تغذية الجهاز بالمحلول بالماء المقطر والموقع وتخلص من بقايا العينات بعد اعتماد النتائج.	تمهيدا لاعادة التجربة عند اللزوم والحفاظ على نظافة الموقع والادوات وسلامة البيئة.

الكفاية العملية - ١٥٥ -

استخدام القطب الانتقائي الأيوني (Ion Selective Electrode = ISE) في

قياس تركيز الصوديوم والبوتاسيوم والكلور.

الهدف :

أن يكون الطالب قادراً على استخدام شرائح الأقطاب الانتقائية لأيونات الصوديوم والبوتاسيوم والكلور في قياس تركيزها في عينات الدم والبول.

المبدأ :

يتألف قطب الإنتقاء الأيوني الصلب من طبقة فضة مكموة بكلوريد الفضة ومغموسة في طبقة كلوريد الأيون المطلوب قياس تركيزه يتكون السطح الخارجي للقطب الأيوني من طبقة نفاذة لأيونات. ينشأ عن انتقال الأيونات المطلوب قياس تركيزها من محاليلها المركزة في العينات إلى محلولها المخفف داخل القطب من خلال الطبقة النفاذة قوة دفع كهربائية. تقارن قوة الدفع الكهربائية الناتجة عن ترطيب القطب بالعينة مع قوة الدفع الناتجة عن ترطيب القطب في المحلول القياسي بواسطة أجهزة الكترونية مبرمجة لطباعة تركيز الأيون المطلوب قياسه ونوع العينة ورقمها وتاريخ إجراء الفحص على شاشة الجهاز أو على شريط ورقي.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- شرائح أقطاب الإنتقاء الأيوني للصوديوم والبوتاسيوم والكلور.
- جهاز مقارنة قوة الدفع الكهربائية الخاصة بالعينة مع قوة الدفع الكهربائي الخاصة بالمحلول القياسي مع كافة ملحقاته.
- ماصة أوتوماتيكية ثنائية مع رؤوسها المناسبة.
- محلول قياسي للصوديوم والبوتاسيوم والكلور.
- ماء مقطر
- لفة ورقة التجفيف.

الوقت	الخطوات	المبررات
١.	أوصل التيار الكهربائي لجهاز مقارنة قوة الدفع الكهربائي وانتظر ظهور كلمة Ready على الشاشة.	لتهيئة الجهاز للعمل.

٢.	عرف الجهاز على طبيعة العينة (دم كامل أو مصل أو بلازما أو بول مخفف ٢:١)	لتمكن الجهاز من التعامل العينة بشكل صحيح.
٣.	أنزع غلاف شريحة أقطاب الأقطاب الانتقائية لأيونات الصوديوم والبوتاسيوم والكلور وادخلها باتجاه السهم المثبت عليها في الفتحة المخصصة لذلك وانتظر كلمة Please Insert+Sample	كي يقوم الجهاز بالتعرف عليها من خلال شريط الرموز (Barcode) المثبت عليها.
٤.	ثبتت في نهاية الماصة الأوتوماتيكية الثانية رأسين مناسبين.	لملئ إحداهما بالعينة وملئ الآخر بنفس الحجم من المحلول القياسي.
٥.	امسح السطح الخارجي لـ رزوس الماصة الأوتوماتيكية بقطعة قماش أو ورق تواليت.	للتأكد من ثبات حجم العينة والمحلل القياسي.
٦.	ضع الماصة في موقعها في الجهاز بالوضع المناسب واضغط العينة والمحلل القياسي في نفس الوقت في المواقع المحددة لهما في شريحة الأقطاب الموجودة داخل الجهاز وارفع الماصة بعد سماع الصفارة الثانية مباشرة ودون تردد.	لترطيب الأقطاب الانتقائية الخاصة بأيونات الصوديوم والبوتاسيوم والكلور بمحلل العينة والمحلل القياسي بنفس الوقت.
٧.	راقب من خلال المؤقت الجهاز في الشاشة مرور دقيقة من الزمن.	للحصول على تركيز أيونات الصوديوم والبوتاسيوم والكلور مكتوباً على الشاشة أو مطبوعاً على الشريط الورقي.
٨.	استقبل شرائح الأقطاب الانتقائية بعد استعمالها من الفتحة المخصصة في الحاوية المخصصة لذلك والمثبتة أمام فتحة الخروج.	للمحافظة على نظافة الموقع.
٩.	أفضل التيار الكهربائي عن الجهاز ونظف الأدوات ومكان العم واعد الأدوات والمواد إلى أماكن حفظها.	استعداد لاعادة التجربة عند الحاجة والمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية - ١٥٦ -

الكشف عن مظهر البول

(Urine Appearance)

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على توقع العوامل غير الطبيعية في عينة البول من مظهرها.

المبدأ :

يتميز البول الطبيعي بصفاته ولونه الأصفر الباهت لذا يستخدم أي تغيير في لونه ودرجة عكورته في المساعدة على تشخيص أمراض الكلى والمجاري البولية .

الادوات والمواد اللازمة :

• حاوية شفافة وعديمة اللون او ورق زجاجي مخروطي.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	امزج عينة البول في حاويته الشفافة عديمة اللون ولاحظ بالعين المجردة درجة عكورته ولونه كما يلي : معكر احمر اللون . معكر كريمي اللون . معكر ابيض اللون . معكر او صافي اصفر فاقع اللون الاسود قارب السطح	لمقارنة مظهر عينة البول بمظهر عينة البول الطبيعي الذي يتميز بلونه الاصفر الباهت (لون التبن) وطبيعته الصافية . وجود خلايا حمراء وجود خلايا حمراء وخلايا بيضاء او طلائية او ملحية . وجود رواسب ملحية مثل الاوكسالات او كاربونات او فوسفات او يورات او خلايا بيضاء او طلائية . وجود البيليروبين . وجود حامض هوموجينيتيسيك (Allcaptunuria)
٢.	تكشف رواسب العينة بالطرد المركزي كما هو مبين في كفاية فحص الرواسب مجهريا .	لفحص الرواسب مجهريا والطاقى كيميائيا .

الكفاية العملية - ١٥٧ -

قياس الرقم الهيدروجيني (pH) العينة البول باستخدام الأشرطة الورقية

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على استخدام الأشرطة الورقية.

المبدأ :

تحتوي الأشرطة الورقية على مجموعة كواشف يغطي مدى فعاليتها المدى المتوقع للرقم الهيدروجيني في عينات البول وبألوان مميزة لكل رقم، يقارن اللون الناتج من غمس الشريط الورقي في عينة البول الطازجة مع جدول لوني خاص مثبت على عبوة الأشرطة.

الادوات والمواد اللازمة :

• شريط ورقي مشبع بمجموعة كواشف تختلف باختلاف الشركة الصانعة بحيث يغطي مدى فعاليتها الأرقام الهيدروجينية المتوقعة لعينات البول.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	اغمس المربع الورقي الخاص بالرقم الهيدروجيني والمثبت على الشريط بلاستيكي في عينة بول طازجة بشكل لحظي.	لإعطاء فرصة تفاعل الكواشف مع أيونات الهيدروجيني أو ON الموجودة في الوسط.
٢.	قارن ما قد يطرأ من تغيير على لون المربع الورقي الخاص بالرقم الهيدروجيني مع الجدول اللوني المثبت على عبوة الأشرطة.	لتحديد قيمة الرقم الهيدروجيني الذي ينطبق لون مربعه في الجدول مع اللون الناتج عن غمس الشريط في عينة البول.
٣.	تخلص من الشريط المستخدم ونظف الموقع وأعد الأشرطة الى مكان حفظها.	استعدادا لإجراء التجربة مرة أخرى وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

قياس الكثافة النوعية للبول Urine Specific Gravity

الهدف :

أن يكون الطالب قادراً على قياس الكثافة النوعية للبول كمؤشر على تركيز المواد الذائبة فيه وبالتالي على قدرة الكلى على القيام بوظيفتها بشكل طبيعي.

المبدأ :

تتميز الكلى الطبيعية بقدرتها على زيادة تركيز المواد الصلبة الذائبة في البول وبالتالي زيادة كثافته النوعية في حالة عدم تناول السوائل وعلى تخفيف المواد الذائبة في البول وبالتالي إنقاص كثافته النوعية في حالة الإفراط بشكل محسوس في تناول السوائل تفقد الكلى قدرتها على التحكم في تركيز المواد الصلبة الذائبة في البول وتبقى الكثافة النوعية للبول ثابتة على حوالي ١,٠١٠ - ١,٠١٢ بغض النظر عن كمية السوائل المتبادلة. تقاس الكثافة النوعية للبول بطريقة مباشرة باستخدام الميزان أو بطرق غير مباشرة عن طريق التعويم باستخدام Urinometer أو انكسار الضوء باستخدام Refractometer. يطرح ٠,٠٠٣ من نتيجة قياس الكثافة مقابل كل غم/دل جلوكوز أو بروتين في حالة ظهورها في البول عند قياسها في حالة الامتناع أو الإفراط في تناول السوائل.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- ميزان حساس
- ماصات زجاجية بمسعات مختلفة (١/٢/٥ أو
- جهاز Urinometer مع وعائه (مخبار اسطوانتي سعته ٢٠ مللستر) أو
- جهاز قياس انكسار الضوء في السوائل Refractometers

أ. قياس الكثافة النوعية باستخدام الميزان

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	قم بوزن دورق قياسي سعة ١٠ ملل نظيفاً وجافاً.	للحصول على وزن الدوق فارغاً.
٢.	املأ الدورق حتى العلامة بالماء المقطر وقم بوزنها.	لمعرفة وزن سعته من الماء المقطر عن طريق طرح وزنه فارغاً من وزنه مملوئاً حتى العلامة بالماء المقطر.

٣.	تخلص من محتويات الدورق من الماء المقطر واغسله بقليل من عينة البول الصافي ومن ثم املاه حتى العلامة وقم بوزنه.	لمعرفة وزن سعته من البول عن طريق طرح وزنه فارغاً من وزنه مملوئاً بالبول حتى العلامة.
٤.	اقسم وزن سعة الدورق من البول على وزن سعته من الماء المقطر.	للحصول على الكثافة النوعية التي تعرف بالنسبة بين كتلة المادة الى كتلة نفس حجمها من الماء المقطر.
٥.	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات الى أماكن حفظها.	استعداداً لإعادة التجربة على عينة أخرى والمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

ب. قياس الكثافة النوعية باستخدام Urinometer

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	أملأ وعاء اليورينوميتر حتى ثلاثة أرباعه بجزء من عينة وهو في وضع مائل.	لتوفير عمق كاف من البول لتعويم اليورينوميتر وتجنب تجمع طبقة رغوة على السطح.
٢.	اغمس اليورينوميتر في البول الموجود في الوعاء بادارته.	للتأكد من تعويم اليورينوميتر في البول وللتخلص من الفقاعات السطحية.
٣.	اقرأ خط التدرج على عنق اليورينوميتر الذي يتطابق مع اسفل تقعر سطح البول.	لمعرفة الكثافة النوعية بشكل أولي.
٤.	تأكد من درجة حرارة الجو أثناء قياس الكثافة النوعية.	لتعديل الكثافة النوعية لعينة البول بما يتناسب مع درجة حرارة تدرج اليورينوميتر المثبتة عليه (١٥°م) وذلك بانقاص ٠.٠٠١ مقابل كل ٣ درجات أعلى من ١٥°م وزيادة ٠.٠٠١ مقابل كل ٣ درجات أقل من ١٥°م من الكثافة النوعية الأولية.
٥.	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات الى أماكن حفظها.	استعداداً لإعادة التجربة والمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

جـ. قياس الكثافة النوعية باستخدام Refractometer

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	نظف سطوح المنشور وغطاءه بقطرة ماء مقطر وقطعة قماش مبللة وجفها.	للتخلص من أية رواسب متبقية من عينات سابقة.
٢.	أقل الغطاء على المنشور وضع قطرة من البول في حفرة قاعدة الغطاء عندما يكون الجهاز أفقياً.	لتصريب البول فوق سطح المنشور بفعل الخاصية الشعرية.
٣.	وجه مقدمة الجهاز باتجاه مصدر ضوئي بزوايا مناسبة.	للحصول على أعلى نسبة من عدم التباين بين الجزء المضيء والجزء المعتم في العدسة العينية.
٤.	اقرأ على تدريج الكثافة النوعية ما يطابق الخط الفاصل بين الجزء المضيء والمعتم في العدسة العينية.	لمعرفة الكثافة النوعية لعينة البول.
٥.	قم بإعادة الخطوات ٢ - ٣ - ٤ على قطرة ثانية من البول.	للحصول على قراءة ثانية واعتماد معدل القرائتين في النتيجة.
٦.	كرر الخطوة رقم (١) ونظف مكان العمل.	استعداداً لإعادة قياس الكثافة النوعية لعينات أخرى وللحفاظ على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية - ١٥٩ -

الفحص المجهرى لرواسب البول

الهدف :

ان يكون الطالب قادراً على استخدام المجهر في الكشف عن طبيعة الرواسب البولية.

المبدأ :

تكثف الرواسب العالقة في البول عشرة مرات باستخدام الطرد المركزي وتستخدم العنصات المسينية ١٠ و ٤٠ لمعرفة طبيعة الرواسب ومقاديرها في عشرة حقول مجهرية متتابعة في عبوة عطاء شريحة بعد التأكد من تجانس توزيعها .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- جهاز طرد مركزي .
- انابيب طرد مركزية بسعة ١٥ ملل ويفضل ان تكون مدرجة .
- شرائح زجاجية واغطينها .
- مجهر مزود بالعنصات المسينية (١٠ و ٤٠) .

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	امزج عينة البول بشكل جيد وخذ ١٠ ملل من العينة في انبوب طرد مركزي يفضل ان يكون مدرجا .	لاشارة الرواسب وتوزيعها بشكل متجانس قبل تعريضها للطرد المركزي.
٢.	عرض محتويات الانبوب للطرد المركزي لمدة ٣ دقائق بمسرعة ٣٠٠٠ د/د وتخلص من ٩ مل .	لمضاعفة تركيز الرواسب البولية عشرة اضعاف تركيزها الاصلى.
٣.	عكر الرواسب البولية فيما تبقى من البول الطافي .	لاعادة توزيع الرواسب بشكل متجانس فيما تبقى من البول الطافي.
٤.	ضع قطرة بحجم مناسب (قطرها حوالي امللم) على شريحة زجاجية نظيفة وجافة وغطها بغطاء شريحة بحيث يبقى الغطاء ثابتا والعينة خالية من الفقاعات.	تمهيدا لفحصها مجهريا.

٥.	استعرض سطح الشريحة الزجاجية على العدسة الشبكية بعيدا عن العينة.	للتعرف على اشكال ما قد يكون لاصقا بها من غبار لاستبعاده من التقرير.
٦.	اممح بشكل شامل العينة على العدسة الشبكية ١٠ (LPF) .	للتأكد من تجانس توزيع الرواسب في العينة.
٧.	استعرض عشرة حقول مجهرية متلاحقة على العدسة الشبكية ٤٠ (HPF).	للتعرف على طبيعة الرواسب البولية ومقاديرها يعبر عن مقادير الرواسب بأقل عدد - أكبر عدد من الخلايا ثم مشاهدته في الحقول العشرة التي تم استعراضها إذا لم يتجاوز عددها في أي حقل ٥٠. ويعبر عن مقاديرها بالمصطلحات التالية Plenty (١٠٠-٥٠) Neumesous أكثر من ١٠٠ Fullypacked عندما تكون الرواسب شبيهة مترصصة. أما الاسطوانيات فيعبر عنها بنفس الطريقة السابقة في كل حقل مجهرى صغير (١٠) يعتبر عن الرواسب الملحقة بدرجات تمثل ما يشغله مجموع الرواسب من الحقل المجهرى ٢٠ بحيث تعادل كل درجة (+) ١ من مساحة الحقل ويعبر ٢٠ عنها بالمصطلحات Rare أو Occasional إذا ظهر عدد قليل منها في بعض الحقول .
٨.	ضع الشريحة والعينة واتيبب الطرد المركزي بمطوول مطهر .	تمهيدا لتنظيفها واعادة استعمالها.
٩.	افصل التيار الكهربائي عن المجهر ونظفه ونظف موقع العمل.	تمهيدا لاعادة التجربة عند اللزوم والمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية - ١٦٠ -

تعداد الرواسب الخلوية في البول بطريقة أديس Addis Count For Urine Cellular Sediments

الهدف :

أن يكون الطالب قادراً على تعداد أي من الخلايا الحمراء والبيضاء والطلائعية والأجسام الأسطوانية في عينة البول باستعمال شرائح تعداد الخلايا مثل شريحة نوبر المحصنة والتعبير عن النتيجة بعدد الخلايا المفردة في ١٢ ساعة.

المبدأ :

تكثف الرواسب الخلوية للبول المجموع خلال ١٢ ساعة من ساعات الليل حيث يحد قدر الإمكان من تناول الطعام والشراب للحصول على عينات بول مركز للحد من قدرة الخاصية الاسموزية على تفتيت الخلايا الحمراء تعد الرواسب الخلوية للبول لمتابعة الأمراض الكلوية المختلفة كالتهاب وحدات العمل الكلوية.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- مجهر ضوئي بالمعدسات الشبكية ٤٠ و ١٠.
- حاوية بفتحة واسعة وغطاء محكم سعة لتر.
- أنابيب طرد مركزي مدرجة سعة ١٥ ملل.
- ١٠% فورمالين.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	أغسل حاوية جمع البول بمحلول ١٠% فورمالين.	لمنع تلف الرواسب الخلوية والحد من نمو البكتيريا.
٢.	زود المريض بالحاوية واطلب منه أن يفرغ مثانته من البول الساعة الثامنة أو أي وقت آخر بحدود الثامنة مساءً بالضبط خارج الحاوية وأن يحصد من طعامه وشرابه قدر الإمكان ويضع ما يخرج من بول	للحصول على البول المركز الذي تفرزه الكلى في المثانة خلال ١٢ ساعة من ساعات الليل.

	خلال الليل في الحاوية حتى الصباح الساعة الثامنة (أو وقت البداية) بالضبط حيث يفرغ كل ما تحويه المثانة وعدم التفريط بأي نقطة، وأن يحفظ الحاوية خلال فترة التجميع بدرجة حرارة الغرفة	
٣.	أكتب اسم المريض على الحاوية عند استلامها.	لتميز عينة المريض عن بقية العينات.
٤.	أمزج محتويات الحاوية وانقلها بشكل كامل إلى دورق مدرج بالملل وهو بوضع مائل.	لقياس حجم البول المتجمع في الحاوية خلال ١٢ ساعة لأقرب ملل وبدون تدخل الرغبة السطحية.
٥.	قم بإجراء الفحص المجهرى للرواسب الخلوية بعد تكثيف البول بأنابيب الطرد المركزي عشرة مرات.	لتحديد حجم البول الذي متعلق فيه الرواسب أثناء العد وبالتالي نسبة تكثيفها.
٦.	أمزج عينة البول جيدا وعرض ١٠ ملل منها للطرد المركزي في أنابيب طرد مدرجة بسرعة ٢٠٠٠ د/د لمدة ٥ دقائق.	لترسيب جميع الرواسب الخلوية الموجودة في ١٠ ملل من البول بعد التأكد من تجانس توزيع الرواسب في العينة.
٧.	تخلص من الطافي وعدل حجم ما تبقى في أسفل الأنبوب إلى ١ ملل أو ٢ ملل وامزج جيدا.	لإعادة تعليق الرواسب في ١ ملل وبالتالي تكثيف رواسب العينة ١٠ مرات أو في ٢ ملل لتكثيف الرواسب ٥ مرات في حالة زيادة كثافة الرواسب في العينة الأصلية.
٨.	أملأ حجرات العد في شريحتي نويز المحسنة على الجانبين من معلق الرواسب المكثف بواسطة أنابيب شعيرية.	تمهيدا لعد أي من الخلايا الحمراء والبيضاء والطلائية والاسطوانيات.
٩.	استخدم العدسة الشبكية ١٠ لعد الأسطوانيات التي في جميع مربعات الصرفي الشريحيين	لمعرفة عدد الأسطوانيات الموجودة في ما في ما معبأته ٣٦ ملل (36W) وذلك بسبب قلة عدد الأسطوانيات نمونيا .

أو	لمعرفة عدد الخلايا الموجودة في ما مساحته ٤ ملم ² (4W).
١٠.	استخدام العدسة الشبكية ٤٠ لمد الخلايا الحمراء أو البیضاء أو الخلايا الطلائية في ما مساحته ١ ملم ² (W) في كل من جهات شريحة العد.
١١.	أقسم عدد الأسطوانات على ٣٦ وعدد الخلايا على ٤.
١٢.	أكتب في تقريرك العدد الطبيعي للخلايا الإسطوانات المفردة في البول كما يلي: الخلايا الحمراء = ٥٠٠٠ - ٥٠٠٠ / ٢ ساعة الخلايا البيضاء = ٥٠٠ - ٥٠٠ / ٢ ساعة الاسطوانات الشبكية = صفر - ٥٠٠ / ٢ ساعة
	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.
	استعددا لإجراء التجربة مرة أخرى وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفالية العملية - ١٦١ -

الكشف عن السكر في البول

Benedict test for urine sugar

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على الكشف عن السكر في البول بواسطة محلول بنديكت.

المبدأ :

يعمل الوسط القلوي الخاص بمحلول بنديكت على تكوين مجموعات الانيدوسول في السكر تقوم مجموعات الانيدوسول باختزال كبريتات النحاس القلوية الموجودة في المحلول إلى راسب من اكاسيد النحاس الحمراء التي عند اختلاطها مع اللون الأزرق الخاص بكبريتات النحاس تعطى جدولا لونيا أخضر، أصفر، برتقالي، أحمر .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- انابيب اختبار نظيفة وجافة.
- محلول بنديكت .
- حمام ماء يغلي أو لهب بنسون.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	امزج حجم بول صافي (٠,٥ ملل أو ٨ نقط) بعشيرة احجام من محلول بنديكت (٥ ملل) في انبوب اختبار.	لاستحداث مجموعات الانيدوسول في السكر الاحادي بفعل الطبيعة القلوية لمحلول بنديكت.
٢.	ضع انبوب الاختبار في حمام ماء يغلي لمدة ٥ دقائق أو سخن الانبوب حتى الغليان على لهب بنسون لمدة دقيقتين.	لمساعدة مجموعات الانيدوسول المستحدثة على اختزال كبريتات النحاس إلى راسب من اكاسيد النحاس الحمراء.
٣.	لاحظ ما قد يطرأ بعد التسخين مباشرة على محلول بنديكت من تغيير متوقع كما يلي: • بقاء محلول بنديكت على حاله. • ظهور لون اخضر مع بقاء المحلول شفافا (صافيا).	تعمقة كثافة الرواسب الحمراء ولون الخليط بينها وبين اللون الأزرق ودلالته. • عدم وجود أي نوع من النشويات احادية السكر . • احتمال وجود السكر ويتم التأكد من ذلك

<p>بتجارب أخرى.</p> <ul style="list-style-type: none"> • وجود أثر للسكر في العينة Trace. • وجود درجة واحدة من السكر (٥، ١٠ غم/دل) (+). • وجود درجتين من السكر (++) • وجود ثلاث درجات من السكر (+++) • وجود أربع درجات أو أكثر من السكر (++++). 	<ul style="list-style-type: none"> • ظهور راسب اخضر شفاف العينة (Trace). • ظهور راسب اخضر غير شفاف. • ظهور راسب اصفر غير شفاف • ظهور راسب برتقالي غير شفاف. • ظهور راسب احمر غير شفاف. 	
<p>تمهيدا لاعادة التجربة على عينات اخرى والمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.</p>	<p>الفصل التيسار الكهربائي عن الحمام المائي او اطفاء اللهب ونظف الاثابيب والماصات والموقع واعد الأدوات والمواد الي أماكن حفظها.</p>	<p>٤ .</p>

الكفاية العملية - ١٦٢ -

الكشف عن الجلوكوز في البول باستخدام الاشرطة الورقية

Test tapes for urine glucose

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على استخدام الاشرطة الورقية في الكشف عن الجلوكوز في عينات البول.

المبدأ :

يحتوي المربع الورقي الخاص بالكشف عن الجلوكوز على انزيمات البيروكسيد وجلوكوز أوكسيديز ومركب فينولي مثل O-Tolidine. يعمل انزيم جلوكوز أوكسيديز على أكسدة الجلوكوز إلى حامض الجلوكونيك وينتج فوق أكسيد الهيدروجين الذي يتحلل بمساعدة البيروكسيد إلى ماء وأكسجين ذري يؤكسد O-Tolidine وبالتالي يتغير لون المربع من الأصفر إلى الأخضر.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- شريط ورقي متبوع بانزيمات glucose oxidase, peroxidase وأي مركب فينولي مثل O-Tolidine (الاشرطة متوفرة تجاريا في الاسواق).

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	اغمس المربع الورقي المثبت على الشريط البلاستيكي في عينة طازجة من البول بشكل لحظي.	لاعطاء الفرصة للانزيمات والمركبات الفينولية الموجودة في مسامات المربع الورقي للتفاعل مع الجلوكوز في حالة وجوده في العينة.
٢.	قارن ما قد يطرأ من تغيير على لون المربع الورقي الخاص بالجلوكوز مع الجدول اللوني المثبت على عبوة الاشرطة.	لاقرار امكانية وجود الجلوكوز دون غسيه من السكريات الاحادية في عينة البول وبشكل شبه كمي.
٣.	تخلص من الشريط المستخدم ونظف الموقع وأعد الاشرطة إلى مكان حفظها .	للمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية - ١٦٣ -

الكشف عن الزلال في البول بالتسخين

(Heat Test for Urine Albumin)

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على استخدام اللهب في الكشف عن وجود بروتين الالبومين في عينات البول.

المبدأ :

يعمل حامض الأسيتيك على تقريب الرقم الهيدروجيني لعينة البول من الرقم الهيدروجيني للتعادل الكهربائي للالبومين (٥.٢) وبالتالي على زيادة حماسيته للتربيب بالتسخين .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- انابيب اختبار نظيفة وجافة.
- ٣٠% حامض الخليك Acetic Acid
- موقد لهب بنسون.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	املا ثلثي الى ثلاثة ارباع انبوب اختبار بعينة البول للصفافي.	كي تتاح الفرصة لتسخين الجزء العلوي من العينة مع بقاء الجزء السفلي بدرجة حرارة الغرفة.
٢.	اضف عدة نقط من ٣٠% حامض الخليك الى سطح البول وحرك الانبوب بشكل تدبدي.	لتقريب pH الجزء السطحي من عينة البول من pH التعادل الكهربائي للالبومين (٥.٢) الذي يسهل امكانية ترسيبه في هذه الحالة بالتسخين.
٣.	اقبض باصابعك على اسفل الانبوب ومسخن حتى الغليان الجزء العلوي من عينة البول في وسط لهب بنسون بحيث تكون فتحة الانبوب معاكسة للوجه والصدر.	للمعمل على تخثر الالبومين ومن ثم ترسيبه بسهولة بدون تعريض الاصابع للحرارة.

<p>لمعرفة كثافة الراسب في حالة ظهوره ودلالته كما يلي:</p> <ul style="list-style-type: none"> • عدم وجود الألبومين في العينة. • وجود أثر بسيط (ضعيف) من الألبومين Faint Trace. • وجود أثر للألبومين في العينة Trace. • وجود الألبومين بدرجة واحدة (+). • وجود الألبومين بدرجة ++. • وجود الألبومين بثلاث درجات (+++). • وجود الألبومين بأربع درجات (++++). 	<p>4. لاحظ ما قد يطرأ من تغيير متوقع على الجزء العلوي من عينة البول لتسي عرضت للفلين بمقارنتها مع الجزء السفلي كما يلي:</p> <ul style="list-style-type: none"> • عدم ملاحظة أي تعكير. • ظهور تعكير ابيض شفاف لا يلاحظ الا في الضوء الساطع. • ظهور تعكير ابيض شفاف بدون مساعدة الضوء الساطع. • ظهور تعكير ابيض متجانس غير شفاف. • ظهور تعكير ابيض رملي غير شفاف. • ظهور تعكير ابيض قشري غير شفاف. • ظهور كتل من الراسب بشكل مفاجيء. 	<p>4.</p>
<p>تسهيدا لاعادة التجربة على عينات اخرى والمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.</p>	<p>5. اطفئ لهب بنسون ونظف الانابيب من العينات ونظف الموقع واعد المحاليل السلي مواقعها.</p>	<p>5.</p>

الكفاية العملية - ١٦٤ -

الكشف عن الزلال في البول بواسطة السلفوساليسيليك

Sulphosalicylic Acid (SSA) test for Urine Albumin

الهدف :

استخدام محلول ٥ % (SSA) في الكشف عن وجود البروتين في البول.

المبدأ :

تترسب البروتينات في اوساطها الحامضية على هيئة أيونات موجبة عن طريق ارتباطها بالقواعد السالبة للأحماض (SSA مثلاً...).

الادوات والمواد اللازمة :

- أنابيب اختبار نظيفة وجافة.
- قطرات
- محلول ٥ % محلول (SSA)

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	اسقط على سطح حوالي ٢ ملل من البول الصافي في انبوب اختبار ٢-٣ نقط من محلول ٥%(SSA)	لترسيب الألبومين في حالة وجوده على هيئة أيونات موجبة في وسطه الحامضي بارتباطه مع قاعدة حامض (SSA) السالبة.
٢.	لاحظ ما قد يطرأ من تعكير ابيض في مسار النقط داخل العينة كما يلي: أ- عدم ظهور أي تعكير. ب- ظهور تعكير.	لمعرفة كثافة التعكير في حالة ظهوره ودلالته كما يلي: - عدم وجود الألبومين. - وجود الألبومين ويتناسب طردي مع تركيز الألبومين
٣.	اعد محلول (SSA) الى مكانه ونظف الانابيب والموقع.	تمهيدا لاعادة التجربة على عينات اخرى وللحفاظ على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية - ١٦٥ -

الكشف عن الزلال في البول بالاشربة الورقية

Test tapes for urine Albumin

الهدف :

ان يكون الطالب قادراً على استخدام الاشرطة الورقية في الكشف عن الزلال (الالبومين) في البول . Test tapes for Albumin

المبدأ :

يحتوي مربع الشريط الورقي على صبغة بروموفينول الأزرق ومنظم سترات (ر.هـ-٣) . يتغير لون الصبغة بعد ارتباطها مع البروتين من الأصفر البرتقالي إلى اللون الأزرق .

الأدوات والمواد اللازمة :

• اشرطة ورقية مشبعة بمحلول صبغة بروموفينول الأزرق
(Bromophenol Blue) ومحلول منظم السيتريت Citrate Buffer.

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	اغمس المربع الورقي المثبت على الشريط البلاستيكي في عينة طازجة من البول بشكل لحظي.	لاعطاء فرصة لصبغة البروموفينول الأزرق الموجودة في مسامات المربع الورقي للتفاعل مع البروتين في حالة وجوده في pH3
٢.	قارن بين ما قد يطرأ من تغيير على لون المربع الورقي الخاص بالالبومين (بروتين) مع الجدول اللوني المثبت على عبوة الاشرطة .	لاقرار امكانية وجود الألبومين في عينة البول وبشكل شبه كمي.
٣.	تخلص من الشريط المستخدم ونظف الموقع.	للمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية -١٦٦-

الكشف عن المركبات الكيتونية في البول بطريقة روتيرا

Ruthesa's Test For Ketonediodies

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على الكشف عن المركبات الكيتونية في البول.

المبدأ :

تشمل المركبات الكيتونية كل من الاسيتون وأحماض Acetoacetic A و B-HydroxyBucyric A وتظهر في البول عند اعتماد الجسم على الشحوم بدل النشويات كمصدر للطاقة كما في المجاعة ومرض السكري يتفاعل الاسيتون والاسيتواسيتيك الذان يرافقان حمض B-HydroxyButyric A مع نيتروبروسيد الصوديوم في الوسط القلوي وينتج لون أحمر قرمزي.

الأدوات والمواد اللازمة :

- أنابيب اختبار ١٠×١٠٠ ملم
- قطرات سعة ٠,٥ ملم.
- مسحوق روتيرا (خليط من ١٠٠ جزء كبريتات الأمونيوم وجزء واحد من نيتروبروسيد الصوديوم).
- محلول أمونيا مركزة
- جهاز طرد مركزي.

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	عرض عينة البول بعد مزجها للطرد المركزي بسرعة ٣٠٠٠ د/د لمدة ٣ دقائق.	لفصل الرواسب الطافي الصافي.
٢.	اشبع حوالي ٢ مللتر من الطافي الصافي بمسحوق روتيرا.	لتوفير فرصة تفاعل نيتروبروسيد الصوديوم مع الاسيتون والاسيتواسيتيك في وسط قلوي.
٣.	أمكب على السطح الداخلي للأنبوب الذي يحتوي الخليط وهو بوضع مائل حوالي ٠,٥ ملل (عبوة قطارة) من محلول الأمونيا	للمحافظة على طبقة الأمونيا مركزة وملامسة سطح الخليط وبالتالي توفير وسط قلوي مركزز لمفاعلة

المركبات الكيتونية مع نيتروبروسيد الصوديوم.	المركزة وأعد الأنبوب الى وضع عمودي بهدوء .	
لاستدلال على وجود المركبات الكيتونية عن طريق ظهور حلقة حمراء قرمزية في سطح التماس تزداد الكثافة مع الوقت حتى ١٥ دقيقة.	٤ . تفحص سطح التماس بين الخليط في اسفل الأنبوب وطبقه الامونيا فوقه بعد عدة دقائق.	
استعدادا لإجراء التجربة مرة أخرى وللحفاظ على نظافة المكان وسلامة البيئة.	٥ . نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.	

الكفاية العملية - ١٦٧ -

الكشف عن الصفراء (Bilirubin) في البول بطريقة فوشيت

Fouchet Test for Urine Bilirubin

الهدف :

ان يكون الطالب قادرا على الكشف عن وجود البيليروبين في عينة البول عن طريق مظهره واستخدام محلول فوشيت Fouchet كمامل مؤكسد.

المبدأ :

يؤكسد كلوريد الحديدك الموجود في محلول فوشيت البيليروبين إلى البيلفيردين الأخضر. تعمل راسب فسفات أو كبريتات الباريوم على امتصاص البيلوروبين وزيادة تركيزه بعد ترسيبها بالطرد المركزي .

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- محلول فوشيت
- محلول ١٠% كلوريد الباريوم.
- قطارات.
- ادوات زجاجية نظيفة وجافة.
- ١- انابيب طرد مركزي.
- ب- ماصات
- حامض كبريتيك مخفف ١٠%

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	لاحظ لون عينة البول بشكل عام ودقق في لون رغوته او القرص المقعر في سطحه.	لأن وجود اللون الاصفر المائل للخضرة من المؤشرات على وجود البيليروبين.
٢.	امزج في انبوب طرد مركزي حجم من عينة البول الصافي (حوالي ٢ ملل) مع حجم مساو من محلول ١٠% كلوريد الباريوم.	للحصول على راسب فسفات الباريوم القادرة على امتصاص البيلوروبين في سطحها.
٣.	اضف عدة نقط من محلول ١٠% حامض كبريتيك في حالة عدم ظهور راسب بشكل ملحوظ في الخطوة السابقة.	لتوفير راسب من كبريتات الباريوم في حالة عدم توفر ايونات الفسفات بكميات كافية في العينة .
٤.	عرض محتويات الانبوب للطرد المركزي بسرعة ٣٠٠٠د/د لمدة ٣ دقائق.	لفصل الراسب الناتج من الخطوات السابقة وتجميعه على شكل قرص في اسفل الانبوب.

٥.	تخلص من الطاقى واضف الى قرص الراسب فى اسفل انبوب الطرد المركزي عدة نقط من محلول فوشيت.	للعمل على اكسدة البيليروبين المجمع بشكل مكثف فى قرص الراسب بشكل فعال الى صبغة البيلفيردين الخضراء.
٦.	راقب ما قد يطرأ من تغيير خلال دقيقتين على لون حواف قرص الراسب كما يلى: أ- عدم ظهور اللون الاخضر. ب- ظهور اللون الاخضر فى حافة القرص وينتشر بالتدرج نحو مركز القرص.	لاقرار ظهور اللون الاخضر الخاص بالبيلفيردين الناتج من اكسدة البيليروبين بكلوريد الحديدك الموجود فى محلول فوشيت. عدم وجود البيليروبين فى البول. وجود البيليروبين فى البول ويتناسب طردي مع عرض الحزام الاخضر فى حلقة القرص.
٧.	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.	تمهيدا لاعادة التجربة على عينات اخرى وللحفاظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفافية العملية - ١٦٨ -

الكشف عن اليوروبيلينوجين والبورفوبيلينوجين في البول

الهدف :

أن يكون الطالب قادراً على الكشف عن وجود أي من اليوروبيلينوجين والبورفوبيلينوجين في عينات البول.

المبدأ :

تتفاعل كل من اليوروبيلينوجين والبورفوبيلينوجين مع محلول إيرليخ في حامض هيدركلوريك مركز وينتج لديها يذات معقدة حمراء وردية. تعمل اميتات الصوديوم على تكثيف اللون الناتج وصنع المسكاتولات والاتدولات (Skators) و (Indode) من التفاعل. يتميز اليوروبيلينوجين عن اليورفوبيلينوجين بذائبيته في الكلوروفورم أو البيوتانول.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- محلول إيرليخ Ehrlich
- محلول مشبع من اميتات الصوديوم.
- بيوتانول.
- كلوروفورم.
- أنابيب اختبار ١١٠ × ١٠ ملم
- جهاز طرد مركزي.

الرقم	الخطوات	الملاحظات
١.	امزج في أنبوب اختبار ١ - ٢ ملل من البول الطازج والصافي مع حجم مساو من محلول إيرليخ.	السماح بتفاعل اليوروبيلينوجين و/أو البورفوبيلينوجين مع محلول إيرليخ وتكوين الذبابة يد معقدة لونه أحمر قرمزي.
٢.	امزج الخليط بالتقليب مع حجمين من محلول مشبع باميتات الصوديوم.	لتكثيف اللون الأحمر الناتج ومنع تفاعل مركبات أخرى مثل مسكاتولات والاتدولات مع محلول إيرليخ.
٣.	وزع الخليط في أنبوبين بشكل متماوي.	لاستخلاص اللون الأحمر بالكلوروفورم والبيوتانول كل على حده.
٤.	أضف الى أحدى الأجزاء حوال ٢ ملل كلوروفورم وامزج بشكل فوري.	لاستخلاص اليوروبيلينوجين بالكلوروفورم.

٥.	عرض الخليط للطرد المركزي بسرعة ١٠٠٠ د/د لمدة دقيقتين.	لفصل الخليط الى طبقتين الكلورفورم في أسفل ومحلول استيئات الصوديوم العالي في أعلى.
٦.	حدد موقع اللون الأحمر بين الطبقتين.	للتفريق بين اليوروبيلينوجين الذي يذوب في الكلورفورم ولا يذوب في الماء ويظهر لونه الأحمر في الطبقة السفلى واليوروفيلينوجين الذي لا يذوب في الكلورفورم ويذوب في الماء الطبقة العليا.
٧.	في حالة عدم استخلاص اللون الأحمر الوردي في الكلورفورم أضف الى محتويات الأنبوب الآخر حوالي ٢ ملل من البيوتانول وأمزج بقوة.	لاستخلاص اليوروبيلينوجين في البيوتانول.
٨.	عرض الخليط للطرد المركزي بسرعة ١٠٠٠ د/د لمدة دقيقتين.	لفصل الخليط الى طبقتين البيوتانول في أعلى ومحلول استيئات الصوديوم في أسفل.
٩.	حدد موقع اللون الأحمر بين الطبقتين.	للتفريق بين اليوروبيلينوجين الذي يذوب في البيوتانول ويظهر لونه الأحمر في الطبقة العليا واليوروفيلينوجين الذي لا يذوب في البيوتانول ويذوب في الماء الطبقة السفلى.
١٠.	أكتب نتائج التجربة كما يلي:	<p>أ. ايجابية لليوروبيلينوجين</p> <p>ب. ايجابية لليوروفيلينوجين</p> <p>لظهور اللون الأحمر في الطبقة السفلى عند الاستخلاص بالكلورفورم وفي العليا عند الاستخلاص بالبيوتانول.</p> <p>لظهور اللون الأحمر في الطبقة العليا عند الاستخلاص بالكلورفورم وفي الطبقة السفلى عند الاستخلاص بالبيوتانول.</p>

<p>ج. سلبية لكلا المركبين</p> <p>د. ايجابية لكلا المركبين.</p>	<p>عدم ظهور اللون الأحمر الوردي في الخليط.</p> <p>إذا ظهر اللون الأحمر بشكل محسوس في كلا الطبقتين في الأنبوبين.</p>
<p>١١.</p> <p>نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد الى أماكن حفظها.</p>	<p>استعداذا لإجراء التجربة مرة أخرى وللمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.</p>

الكفاية العملية - ١٦٩ -

تجربة تحمل الجلوكوز

Glucose Tolerance Test = GTT

الهدف :

أن يكون الطالب قادرا على إجراء تجربة تحمل الجلوكوز الفموية والوريدية للمرضى الذين يشتبه بمعاناتهم من مرض السكري وأن يلم بطبيعة الخطوط البيانية التي تعبر عن نتيجة التجربة ودلالاتها.

المبدأ :

يتميز مرضى السكري بنقص احتمال الجلوكوز (نقص سرعة انخفاض تركيز جلوكوز الدم) والذي يعتبر مؤشرا على معاناة الإنسان من أحد أنواع مرض السكري. لذا يعطى المريض الصائم جرعة محسوبة من الجلوكوز عن طريق الفم أو عن طريق الوريد ومن ثم تجمع عينات الدم منه على فترات زمنية متلاحقة. تمثل العلاقة بين تركيز جلوكوز العينات وزمن جمعها بخط حيث يثبت زمن جمع العينة على المحور السيني وتركيز جلوكوز الدم على المحور الصادي.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- جهاز تحليل طيفي لوني Spectrophotometer
- مجموعة المواد اللازمة لقياس تركيز الجلوكوز في الدم.
- مسحوق جلوكوز أو ٥٠% محلول جلوكوز.
- ماء مقطر.
- كأس زجاجي سعة ٥٠٠ ملل.
- إبر سحب الدم مع حقنها
- أنابيب اختبار ١١٠ × ١٠ ملم
- حاويات لعينات الدم الخاصة بقياس تركيز الجلوكوز.
- ورق رسم بياني.

أ. تجربة احتمال الجلوكوز الفموية

(Oral G.TT)

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	أطلب من المريض أن يحضر للمختبر صائما بعد ثلاثة أيام من تناول وجبات غنية بالنشويات	للحصول على وضع قياسي أساسي في تركيز جلوكوز الدم وتجنب نقص غير حقيقي في احتمال

	(بمعدل ٣٠٠ غم/يسوم) وعدم تناول أية أدوية تؤثر على تركيز جلوكوز الدم.	الجلوكوز.
٢.	أصبح عينة دم من المريض الصائم وأطلب منه أن يجمع عينة بول.	لقياس تركيز جلوكوز الدم والكشف عن الجلوكوز في البول في حالة الصيام.
٣.	زن مسحوق جلوكوز بما يعادل ١,٥ غم/كغم من وزن المريض وأذابه في حوالي ٣٠٠ ملل ماء مقطر مضافا إليها عدة نقاط ليون وأسق المحلول للمريض.	لتوفير جرعة جلوكوز مناسبة للمريض عن طريق الفم بدون شعوره بالغثوثان بسبب شدة حلاوة المحلول.
٤.	أصبح عينة دم واجمع عينة بول من المريض كل نصف ساعة من بعد انتهائه من تناول محلول الجلوكوز حتى انقضاء ساعتين ونصف.	لاستخدامها في متابعة تركيز الجلوكوز في الدم على مدى ساعتين ونصف من تناول جرعة الجلوكوز عن طريق الفم.
٥.	تم بقياس تركيز جلوكوز الدم في عينة الصيام وبقيّة العينات بالطريقة المعتادة في المختبر.	للتعرف على تركيز جلوكوز في حالة الصيام وفي الفترات الزمنية اللاحقة لتناوله جرعة المنشويات عن طريق الفم.
٦.	قم بالكشف عن الجلوكوز في بول عينة الصيام والعينات اللاحقة.	للاربط بين تركيز جلوكوز الدم وظهوره في البول.
٧.	مثل العلاقة بين تركيز جلوكوز الدم وزمن جمع العينة بخط بياني حيث يثبت زمن جمع العينة على المحور السيني وتركيز جلوكوز الدم على المحور الصادي.	لاستخدام خصائص الخط البياني في معرفة مدى احتمال الجلوكوز حيث يقل أو يكاد أن يتلاشى في مرضى السكري.
٨.	تخصص خصائص الخط البياني المرسوم وبناءا عليه استنتج ما يلي: أ. احتمال جلوكوز الاتساع الطبيعي لا يعاني مرض السكري.	لأن تركيز جلوكوز دم الصيام أقل من ١٠٠ ملغم/دل ولا يتجاوز أعلى تركيز جلوكوز الدم في جميع العينات المعتبة الكلوية (١٦٠ ملغم/دل) ويعود تركيز جلوكوز الدم إلى مستوى الصيام بعد ساعتين ويقل

<p>قليلا بعد ساعتين ونصف ولا يظهر الجلوكوز في أي من عينات البول.</p> <p>لأن تركيز جلوكوز دم الصيام أعلى من ١٠٠ ملغم ويتجاوز أعلى تركيز له العقبة الكلوية (في عينات النصف ساعة والساعة) حيث يظهر الجلوكوز في البول ويقل تركيزه بعد ساعتين عن أعلى تركيز له لكنه لا يعود إلى مستوى الصيام بعد ساعتين.</p> <p>لأن تركيز جلوكوز دم الصيام وبقية العينات يتجاوز العتبة الكلوية بشكل تدريجي حتى أعلى تركيز له (بعد ساعة) الذي يبقى ثابتا حتى بعد ساعتين من جرعة الجلوكوز ويظهر الجلوكوز في جمع عينات البول.</p> <p>لأن تركيز جلوكوز الدم يزيد قليلا عن تركيز الصيام ويظهر الخط البياني شبه مستقيم.</p> <p>استعداد لإجراء التجربة مرة أخرى وللحفاظ على نظافة الموقع وسلامة البيئة.</p>	<p>ب. نقص بشكل معتدل في احتمال الجلوكوز يخص امتساها يعاني من مرض سكري معتدل</p> <p>Mild Diabitis Melitis</p> <p>ج. نقص حاد في احتمال الجلوكوز يخص امتساها يعاني بشكل حاد في مرض السكري</p> <p>Aoute Diabitis Melitus</p> <p>د. زيادة احتمال الجلوكوز لمن يعاني من نقص نشاط بعض العدد مثل مرض أديسون (هورمون الالوستيرون) ومرض سيموند (نقص نشاط الغدة النخامية) ونقص نشاط الغدة الدرقية وفي اضطرابات القناة الهضمية.</p>	<p>٩. نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد المستخدمة إلى أماكن حفظها.</p>
---	---	---

ب. تجربة احتمال الجلوكوز الوريدية

Intrauevtw (G.T.T)

المرات	الخطوات	الرقم
للحصول على تركيز جلوكوز دم قياسي اسمي في حالة الصيام وتجنب نقص غير حقيقي في احتمال الجلوكوز.	أطلب من المريض أن يحضر للمختبر صائما بعد ثلاثة أيام من تناول وجبات نشوية عينة النشويات (بمعدل يزيد عن ٣٠٠ غم/يوم) وعدم تناول أية أدوية تؤثر على تركيز جلوكوز الدم.	١.

٢.	أحقن المريض عن طريق وريد اليد بمحلول ٥٠% جلوكوز معقم بمعدل ٠,٥غم/كغم من وزنه.	لتوفير جرعة جلوكوز في الدم مباشرة وللخلاص من إصابات عملية الانصصاص في القناة الهضمية.
٣.	قم بجمع عينات دم من اليد الأخرى للمريض مباشرة بعد حقن الجلوكوز وكل عشرة دقائق مرة وعلى مدى ساعة من الزمن.	لاستخدامها في متابعة تركيز جلوكوز الدم على مدى ساعة من حقنه في الوريد.
٤.	قم بقياس تركيز جلوكوز الدم في جميع العينات بالطريقة المعتمدة في المختبر.	للتعرف على تركيز جلوكوز الدم في الفترات الزمنية اللاحقة لحقن الجلوكوز وعلى مدى ساعة من الزمن.
٥.	مثل العلاقة بين تركيز جلوكوز الدم وزمن جمع العينة بخط بياني حيث يثبت زمن جمع العينة على المحور السيني وتركيز جلوكوز على المحور الصادي حيث يظهر مستقيما ويتناقص تدريجيا.	لاستخدام مسطرة انخفاض تركيز جلوكوز الدم في معرفة مدى احتمال الجلوكوز حيث يقل أو يكاد أن يتلاشى من مرضى السكري.
٦.	<p>قم بحساب النسبة المئوية لانخفاض تركيز جلوكوز الدم في الدقيقة الواحدة مستخدما المعادلة التالية:</p> $\frac{\text{جلوكوز العينة الأخيرة} \times 100}{\text{جلوكوز العينة الأولى} - \text{جلوكوز العينة الأخيرة} \times 100}$ <p>وقرر درجة احتمال الجلوكوز كما يلي:</p> <p>أ. احتمال جلوكوز إنسان طبيعي.</p> <p>ب. نقص احتمال الجلوكوز خاص بمرضى السكري.</p> <p>ج. زيادة احتمال الجلوكوز خاص بنقص نشاط الغدد الدرقية والنخامية والكظرية.</p>	<p>لأن النسبة المئوية لمرعة انخفاض جلوكوز الدم = ١-١,٥%</p> <p>لأن النسبة المئوية لمرعة انخفاض جلوكوز الدم تقل عن ١%.</p> <p>لأن النسبة المئوية لمرعة انخفاض جلوكوز الدم تزيد عن ١,٥%.</p>

٧.	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد المستخدمة في أماكن حفظها.	استعداداً لإجراء تجارب أخرى والمحافظة على نظافة الموقع وسلامة البيئة.
----	--	--

الكفاية العملية - ١٧٠ -

جمع بول (٢٤) ساعة وقياس سرعة إدراره.

24hrs Urine Collection and Measurement of urine Out Flow

الهدف :

أن يكون الطالب قادراً على جمع عينة ٢٤ ساعة من البول وقياس سرعة إدراره بالملل في كل دقيقة.

المبدأ :

لقياس سرعة الإدرار البول يجب تجميع كل ما يخرج من الجسم من بول خلال ٢٤ ساعة وضبط الزمن اللازم لذلك لأقرب دقيقة بسبب اختلاف سرعة إدراره من وقت لآخر خلال الليل والنهار.

الادوات والمواد اللازمة :

- حاوية سعة ٢ لتر بفتحة واسعة ومحكمة الإغلاق.
- حامض هيدروكلوريك مركز .
- مخابر مدرجة بالملل سعة لتر.
- ساعة يد

الرقم	الخطوات	المبررات
١.	ضع في حاوية نظيفة وجافة ٢٠٠ ملل من ٢ معياري حامض هيدروكلوريك.	لحفظ البول المجمع خلال ٢٤ ساعة من التلف.
٢.	الفت نظر المريض الى وجود الحامض في الحاوية قبل تسليمها له.	كي يكون حريصاً عند التعامل معها حتى لا ينسكب الحامض أو يتأثر عليه.
٣.	اطلب من المريض أن يتخلص من بول الصباح وضبط وقت خروج آخر قطرة من البول خارج الحاوية لأقرب دقيقة وأن يجمع البول الذي يخرج منه على فترات مختلفة خلال النهار والليل الذي يليه داخل الحاوية وأن يفرغ ما تحتويه المئات من بول مهما كان قليلاً للآخر مرة في الحاوية في نفس الوقت الذي بدأ فيه التجميع في صباح اليوم السابق.	للحصول على كمية البول التي تفرزها الكلى في المئات خلال ٢٤ ساعة.

٤.	اكتب اسم المريض على الحاوية عند امتلائها.	لتمييز عينة المريض عن بقية العينات.
٥.	استخدم المخبر المدرجة لقياس حجم البول المتجمع في الحاوية وأطرح منه حجم المادة الحافظة للبول.	لمعرفة حجم البول الذي تفرزه المثانة خلال ٢٤ ساعة لأقرب ملل لاستخدامه في التعرف على كفاءة الكلى.
٦.	أقسم حجم البول المجموع في ٢٤ ساعة على ١٤٤٠ دقيقة.	للحصول على مسرعة أدراج البول معبرا عنها بالملل /د/ تقدر مسرعة أدراج البول الطبيعية بـ ٠,٨٣ - ١,١ ملل /د/.
٧.	نظف الأدوات ومكان العمل وأعد الأدوات والمواد إلى أماكن حفظها.	استعدادا لإجراء التجربة مرة أخرى وللحفاظ على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

الكفاية العملية - ١٧١ -

فحص التنقية الكلوية

Kidney Clearance Test

الهدف :

أن يكون الطالب قادراً على إجراء تجربة التنقية الكلوية لأي مركب في الدم مثل الكريتين وبالتالي معرفة مدى قدرة الكلى على انجاز عملها.

المبدأ :

تعرف التنقية الكلوية لأي مركب بالسرعة اللازمة لمرور الدم في الكلى معبراً عنها بالملل / الدقيقة تنقية الدم بشكل كامل من المركب وتحسب بتطبيق المعادلة التالية:

$$\text{التنقية الكلوية (ملل/د)} = \frac{\text{تركيز المركب في البول (ملغم/دل)} \times \text{سرعة إدرار البول (ملل/د)}}{\text{تركيز المركب في البلازما (ملغم/دل)}}$$

يستخدم الكريتينين في قياس تجربة التنقية الكلوية لأنه مركب استقلابي ولا تتأثر تنقيته بشكل محسوس بسرعة إدرار البول ولا بطبيعة الغذاء كما هو الحال بالنسبة لليولينيا ولا يعادل امتصاصه في الكلى.

الأجهزة والادوات والمواد اللازمة :

- جهاز تحليل طيفي لوني.
- مجموعة المواد اللازمة لقياس الكريتينين بطريقة جافي (Jaffe).
- محبار مدرج بالملل سعته ٥٠ ملل.
- حاوية لجمع عينة البول سعته ٥٠٠ ملل.
- حاويات دم مائع تجلط جاف EDTA.
- إبر سحب الدم مع حقنها.
- أنابيب اختبار ١١٠ × ١٠ ملم

القصية الكلوي للكريتينين CKCT

الرقم	الخطوات :	المبررات
١.	زود المريض بحاوية نظيفة وجافة واطلب منه أن يشرب كأس ماء وأن يفرغ مثانته من البول خارج الحاوية قبل ساعتين من حضوره إلى المختبر وأن يضبط وقت تخلصه من آخر قطرة بول خارج الحاوية لأقرب دقيقة وأن يتناول طعامه وشربه كالمعتاد وأن يجمع كل ما يخرج من البول لاحقاً في الحاوية.	لتحديد بداية توقيت جمع عينة البول في المثانة لأقرب دقيقة.

٢.	أُسحب عينة دم على سائغ تجلط حال وصول المريض للمختبر.	لاستخدامها في قياس تركيز الكريتين في البلازما.
٣.	أُسق المريض كأساً ماء ودعه ينتظر بعد ذلك لمدة ساعة الى ساعتين حتى يشعر بجأجه لإخراج البول وأطلب منه أن يفرغه في الحاوية وأن يضبط وقت خروج البول لأقرب دقيقة وأن لا يفرط بأي قطرة منه.	لتحديد نهاية توقيت جميع البول من المثانة لأقرب دقيقة.
٤.	أكتب اسم المريض على الحاوية وعينة الدم.	لتمييز عينة المريض عن بقية العينات لقياس كمية البول المجمعة لأقرب مليل بدون تدخل أي طبقة من الرغوة في تحديد سطح البول لمعرفة زمن جمع عينة البول لأقرب دقيقة.
٥.	أنقل البول المجموع في الحاوية عند استلامها إلى مخبر مدرج بالملل سمته ٥٠٠ ملل بشكل مائل.	لقياس كمية البول المجمعة لأقرب مليل بدون تدخل أي طبقة من الرغوة في تحديد سطح البول.
٦.	أطرح زمن بدء تجميع البول في الحاوية من زمن نهاية للتجميع.	لمعرفة زمن جمع عينة البول لأقرب دقيقة.
٧.	أقسم كمية البول (بالميل) على زمن تجميعه (دقيقة).	للحصول على سرعة إدرار البول بالميل/دقيقة.
٨.	قم بقياس تركيز الكريتينين في عينات الدم والبول التي تم الحصول عليها من المريض بالطريقة المعتمدة.	لاستخدام تركيز الكريتينين في عينات البول والدم في حساب التنقية الكلوية للكريتينين.
٩.	استخدم معادلة للتنقية الكلوية المشار لها في المبدأ في حساب التنقية الكلوية للكريتينين.	لمعرفة مدى كفاءة الكللى إذ تساوي التنقية الكلوية الطبيعية للكريتينين ٩٥-١٤٠ ملل/د للرجال و ٨٥-١٢٥ ملل/د للنساء. تقل التنقية الكلوية للكريتينين عن الحد الأدنى للقيم الطبيعية في حالة الاضطرابات الكلوية.
١٠.	نظف الأدوات ومكان العمل واعد المواد والأدوات الى أماكن حفظها.	استعداد لإجراء التجربة مرة أخرى وللحفاظ على نظافة الموقع وسلامة البيئة.

دلالة الرموز

١. ملم = ملليمتر = ١ متر $\times 10^{-3}$.
٢. ملغم = مليغرام = ١ غرام $\times 10^{-3}$.
٣. ملل = ميليلتر = ١ لتر $\times 10^{-1}$.
٤. ميك = ميكرومتر = ١ $\times 10^{-6}$.
٥. ميكم = ميكرومتر = ١ متر $\times 10^{-6}$.
٦. ميك = ميليمكرون = ١ $\times 10^{-9}$.
٧. ميكغم = ميكروغرام = ١ غرام $\times 10^{-9}$.
٨. مول = وزن جزئي.
٩. نمول = مليمول = ١ وزن جزئي $\times 10^{-3}$.
١٠. ميكمول = ميكرومول = ١ وزن جزئي $\times 10^{-6}$.

المراجعة العلمية

Quaranogkaphy

١. علم الأحياء الدقيقة (الجراثيم)، الطبعة الثالثة ١٩٩٨، الجزء الثاني - الطهي التشخيصي - يوسف إبراهيم المشني، دار المستقبل للنشر والتوزيع، عمان - الأردن.
٢. علم المناعة والأمصال، الطبعة الأولى ١٩٩٠، يوسف المشني، دار عمان للنشر والتوزيع، عمان - الأردن.
٣. علم الأحياء الدقيقة، الطبعة الثالثة ١٩٩٨، الجزء الأول - الأساسيات - يوسف إبراهيم المشني، دار المستقبل للنشر والتوزيع.
٤. علم الدم، الطبعة الأولى ١٩٩١، عبد الرحيم فطائر، دار الثقافة للنشر والتوزيع.
٥. بنك الدم، الطبعة الأولى ١٩٩١، دار الثقافة للنشر والتوزيع، عمان - الأردن.

6. BAILEY & SCOTT'S DIAGNOSTIC MICROBIOLOGY 9TH EDITION 1994, BY ELLEN JOBARON, LANCE R. PETERSON SYDNEY M. FINEGOLD MOSBY- ST LOWIS BALTIMORE BOSTEN, CHICAGO, LONDON, MADRID, ISBN 0-8016-0420-6.
7. SPECIMEN COLLECTION AND TRANSPORT FOR MICROBIOLOGICAL INVESTIGATION, WHO 1995 - ISBN 92-9021-1962.
8. MEDICAL MICROBIOLOGY - 12TH EDITION - 1982 BY- R-CRUIKSHANK, J.P.DUGUID B.P. MATIMION, R.H.A. SWAIN,

**CHURCHILL LIVING STONE EDINBURGH, LONDON- AND
N.Y. ISBN 0-4430-1111-7.**

- 9. CROWN & TELLS MANNAL FOR IDENTIFICATION, OF
BADERIA - 2ND EDITION - 1981, BY - CAMBRIDGE
UNIVERSITY PRESS LONDON, N.Y, N. ROCHELLE,
MELBOURNE- SYDNEY ISBN 0-521-20399-6.**
- 10.MANNUAL OF CLINICAL LABARATORY IMMUNOLOGY 4TH
EDITION 1992, BY NOEL R. ROSE, EVERLY CONWAY DE
MACARIE, JOHN L. FAHEY, HERMAN FRIEDMAN O
GERALD H.PENN.**
- 11.IMMUNOLOGY - 1985 BY IVAN ROITT, JONATHAN
BROSTOFF, DAVID MALE, PUB. GO WER MEDICAL
PABLISHING LTD, ISBN- 906923-35-2, CHURCHILL
LIVINGSTONE ISBN 0443-02912-1 EDINBURGH, LONDON
AND N.Y.**
- 12.CLINICAL PARASITOLOGY- 8TH EDITION 1976 BY-
ERNESTCAROLL FAUST, PAUL FARR RUSELL.**
- 13.THEORY AND PRACTICE OF HISTOLOGICAL TECHNIGUES
3RD EDITION 1990.**
- 14.CLINICAL HEMATOLOGY 1ST EDITION 1988 BY MARY
LOUISE TURGEON.**
- 15.WINTROBE CLINICAL HEMATOLOGY 8TH EDITION 1981.**
- 16.PRACTICAL HEMATOLOGY - 5TH EDITION- 1982.**
- 17.BLOOD GROUPS FEROLEGY 5TH EDITION - 1981.**
- 18.ISBN. 0-443-01475-2.**
- 19.ANALYTICAL CHEMISTRY -4TH EDITION - 1986.**
- 20.FUNDEMENTALS OF ANALYTICAL CHEMISTRY 3RD
EDITION 1976.**
- 21.TODD-SANFORD-CLINICAL DIAGNOSIS 14TH EDITION -1969.**
- 22.CLINICAL DIAGNOSIS & MANAGEMENT 17TH EDITION 1984.**
- 23.CLINICAL CHEMISTRY 1ST EDITION 1981.**
- 24.CLINICAL CHEMISTRY, PRINCIPLES AND TECHNIQUES.**
- 25.PRACTICAL CLINICAL CHEMISTRY 5TH EDITION 1980.**

الفهرس

رقم الصفحة	اسم الصفحة	رقم
٥	مقدمة	
٧	الفصل الأول: علم الأحياء الدقيقة.	
	الوحدة الأولى: أساسيات علم الأحياء الدقيقة.	
٩	١. اتقان إجراءات السلامة لمنع التلوث والإصابة في مختبرات علم الأحياء الدقيقة.	
١١	٢. استعمال المجهر.	
١٢	٣. استعمال الحاضنة.	
١٣	٤. استعمال المبخر.	
١٤	٥. استعمال فرن الهواء الجاف.	
١٥	٦. طريقة الصبغ البسيطة.	
١٦	٧. طريقة جرام في الصبغ.	
١٨	٨. تقنية القطرة المعلقة.	
١٩	٩. تحضير الأوساط الزراعية السائلة والصلبة.	
٢١	١٠. زراعة البكتيريا بطريقة التخطيط للحصول على مستعمرات منفردة (نمو نقي).	
٢٣	١١. زراعة البكتيريا بطريقة الصب للحصول على مستعمرات منفردة (نمو نقي).	
٢٤	١٢. دراسة صفات المستعمرات البكتيرية.	
٢٥	١٣. عد الخلايا البكتيرية في العينات السائلة على الأوساط الصلبة.	
٢٦	١٤. فحص حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية.	
٢٨	١٥. قياس تركيز الحد الأدنى المثبط (القاتل) MIC للمضاد الحيوي.	
٢٩	١٦. صبغ المحفظة (Capsule) والأبواغ (Spores).	
٣١	الوحدة الثانية: علم الأحياء الدقيقة الطبي	
٣٣	١٧. دراسة زراعة نغية للبكتيريا وتشمل جميع أنواع البكتيريا	

٣٥	الكشف عن الفطريات بالتحضير المباشر من العينة أو من الزراعة.	١٨
٣٦	دراسة زراعة نقية لبعض أنواع العفن والخميرة وبخاصة <i>Candida</i> .	١٩
٣٨	أجراء تجربة الأنبوب الجرثومي Germ tube test	٢٠
٣٩	طريقة Ziehl-Neelsen في الصبغ	٢١
٤١	طريقة Neisser في الصبغ	٢٢
٤٢	التعرف على أنواع الأوساط الزراعية المختلفة والمحضرة.	٢٣
٤٣	أجراء فحص تخمير السكريات.	٢٤
٤٤	أجراء فحص Methylene Red Test	٢٥
٤٥	أجراء فحص VP	٢٦
٤٦	أجراء فحص Indole	٢٧
٤٧	أجراء فحص Catalase	٢٨
٤٨	أجراء فحص Oxidase	٢٩
٤٩	أجراء فحص Citrate	٣٠
٥٠	أجراء فحص Coagulase	٣١
٥١	أجراء فحص Urease	٣٢
٥٢	أجراء فحص الذائبية في أملاح الصفراء Bile Solubility Test	٣٣
٥٣	أجراء فحص Quellung لتشخيص أنواع المكورات الرئوية	٣٤
٥٤	أجراء فحص أسالة الجيلاتين Gelatine Liquefaction	٣٥
٥٥	أجراء فحص H ₂ S - production	٣٦
٥٦	أجراء فحص Phenylalanine deaminase	٣٧
٥٧	تجربة اختزال النيترات Nitrate Reduction Test	٣٨
٥٨	أجراء فحص MIO	٣٩
٦٠	أجراء تجربة API	٤٠
٦٢	أجراء فحص Elek Test	٤١
٦٣	عزل عصيات الـ <i>Clostridium</i> من التربة.	٤٢
٦٤	تعداد البكتيريا في المنابت المائلة باستعمال الطيف الضوئي	٤٣
٦٧	الوحدة الثالثة: علم الأحياء الدقيقة التشخيصي	
٦٩	جمع العينات المرضية للزراعة.	٤٤
٧٠	جمع مسحات من الحلق.	٤٥

٧١	جمع مسحات العين.	٤٦
٧٢	جمع مسحات الأنف.	٤٧
٧٣	جمع مسحات الجروح والحروق.	٤٨
٧٤	جمع مسحات الجهاز التناسلي الذكري.	٤٩
٧٥	جمع مسحات الجهاز التناسلي الأنثوي (عنق الرحم).	٥٠
٧٦	البغم	٥١
٧٧	البول.	٥٢
٧٨	جمع عينة الدم لغايات الزراعة.	٥٣
٨٠	تشخيص مسببات الإصابة في الجهاز البولي.	٥٤
٨٢	تشخيص المسببات المرضية لعينات الحلق والفم والجروح والحروق ومسحات الجهاز التناسلي وإفرازات البروستات ومسحات الأنف والعين.	٥٥
٨٤	تشخيص مسببات التهاب القنطرة الهضمية (المعدة والأمعاء).	٥٦
٨٦	تشخيص المسببات المرضية لالتهاب السحايا والدماغ في عينة CSF.	٥٧
٨٨	تشخيص المسببات المرضية في عينة دم.	٥٨
٩٠	تشخيص المسببات المرضية للجهاز التنفسي السفلي.	٥٩
٩٣	الفصل الثاني: علم الطفيليات الطبي	
٩٥	جمع وحفظ عينات البراز.	٦٠
٩٦	فحص البراز ظاهرياً.	٦١
٩٧	القيام بعمل التحضير الرطب (المباشر) لعينة البراز.	٦٢
٩٨	تمييز الأشياء الطبيعية الموجودة في عينات البراز.	٦٣
٩٩	تشخيص الإصابة بالاوليات والديدان المعوية.	٦٤
١٠٠	فحص البراز بطريقة التركيز.	٦٥
١٠٢	تشخيص الإصابة بالدودة البوسية بواسطة تقنية الشريط اللاصق.	٦٦
١٠٣	تشخيص الإصابة بالاوليات والديدان الدموية والتسجية.	٦٧
١٠٤	تحضير لطخات (افلام) دم رقيقة وصبغها ومشاهدتها مجهرياً.	٦٨
١٠٥	تحضير لطخات (افلام) دم سميكة وصبغها ومشاهدتها مجهرياً.	٦٩
١٠٧	تحضير لطخات (افلام) دم سميكة ورقيقة على كل شريحة واحدة وصبغها ومشاهدتها مجهرياً.	٧٠
١٠٨	الكشف عن وجود الدم الخفي Occult blood في عينات البراز.	٧١

٧٢. عمل تحضير دائم لعينة براز وصيغة ومشاھنته مجهريا. ١٠٩

الفصل الثالث: علم المناعة والأمصال

٧٣. إخضاع عينة المصل للمعالجة لتجنب ظهور نتائج ايجابية خاطئة ١١١

٧٤. استخدام تفاعل التثخن بالانكس على الشريحة في فحوصات الكشف عن : ١١٥

• Pregnancy •

• Brucella •

• RF •

• CRP •

• VDRL •

• RPR •

٧٥. الكشف عن الحمل باستخدام تفاعل منع التثخن على الشريحة . ١١٧

٧٦. المعايرة المصلية للفحوصات ١١٩

٧٧. اجراء تجربة تثبيط تثخن الدم ١٢١

٧٨. اجراء تفاعل الترسيب بالانتشار الثنائي على الاجار ١٢٣

٧٩. اجراء تجربة حساسية للجلد ١٢٤

٨٠. استخدام تثخن الدم في الكشف عن الأجسام المضادة الباردة لـ M . ١٢٥

• pneumonia •

٨١. استخدام فحص Paul - Bunnel لتشخيص داء وحيدات النوواه ١٢٧

• Infectious Mononucleosis •

١٢٩

الفصل الرابع : علم التحضير المجهري

٨٢. اتخاذ اجراءات السلامة في مختبر الأمسجة ١٣١

٨٣. استقبال العينة النسيجية ووسمها وتسجيلها حسب الأصول ١٣٢

٨٤. مساعدة الطبيب في أخذ الصفات الظاهرية للعينة النسيجية ١٣٣

٨٥. إزالة الكلس من العينة النسيجية ١٣٤

٨٦. معالجة العينة النسيجية يدويا ١٣٦

٨٧. اشباع (تشريب) العينة النسيجية بشمع السبرافين والصب في القوالب المعدنية ١٣٧

٨٨. تقطيع المكعبات النسيجية للحصول على مقاطع نسيجية ١٣٩

٨٩. تحميل المقاطع النسيجية ١٤٠

٩٠. صبغ المقاطع النسيجية ١٤١

٩١. تغطية المقاطع النسيجية ١٤٣

٩٢. حفظ وخزن الشرائح النسيجية بعد فحصها ١٤٤

الفصل الخامس : علم دم

١٤٥	٩٣	تحضير عينات الدم
١٤٧	٩٤	استقبال العينات
١٤٩	٩٥	جمع عينات الدم في الأوعية الشعرية
١٥١	٩٦	جمع عينات الدم من الأوردة
١٥٣	٩٧	تعداد الخلايا الدموية الحمراء والصفائح مجهرياً
١٥٦	٩٨	تحضير ودراسة شريحة دموية مصبوغة
١٦٠	٩٩	قياس تركيز الهيموجلوبين في الدم
١٦٣	١٠٠	قياس تركيز هيموجلوبين الولادة
١٦٤	١٠١	الكشف عن الهيموجلوبينات غير الطبيعية
١٦٦	١٠٢	الكشف عن مشتقات الهيموجلوبين
١٦٨	١٠٣	قياس مكدهاس الدم PCV
١٦٩	١٠٤	قياس سرعة ترسيب الخلايا الحمراء ESR بواسطة ماصات Erythrocytes
١٧١	١٠٥	قياس سرعة ترسيب الخلايا الحمراء ESR بواسطة ماصات ZSR
١٧٣	١٠٦	قياس النسبة المئوية للخلايا الشبكية
١٧٥	١٠٧	قياس الهشاشة الاسموزية للخلايا الحمراء
١٧٧	١٠٨	الكشف عن الخلايا المنجلية بالطريقة الرطبة
١٧٩	١٠٩	قياس زمن النزف Bleeding time من أطراف الأصابع
١٨١	١١٠	قياس زمن النزف Bleeding time من مقدمة الساعد
١٨٢	١١١	قياس زمن التجلط Clotting Time باستخدام الشرائح الزجاجية
١٨٤	١١٢	قياس زمن التجلط Clotting Time باستخدام الأنابيب الشعرية
١٨٥	١١٣	قياس زمن التجلط Clotting Time باستخدام أنابيب الاختبار
١٨٧	١١٤	قياس زمن البروثرومين
١٨٩	١١٥	قياس زمن الثرومبوبلاستين الجزئي PTT
١٩١	١١٦	قياس زمن البروثرومين Thrombin Time
١٩٣	١١٧	قياس تركيز الفيبرينوجين في البلازما
١٩٥	١١٨	دراسة تكوين الجلطة الدموية وضموها
١٩٧	١١٩	قياس نتائج تحلل الفيبرين
٢٠٠	١٢٠	فحص السائل المنوي
٢٠٢		

٢٠٦	الفحص الكامل لسائل النخاع الشوكي	١٢١
٢١٠	فحص السوائل المصلية	١٢٢
٢١٤	تحضير صبغات روماتوسكي لشرائح الدم	١٢٣
٢١٧	تحضير صبغات الخلايا الشبكية	١٢٤
٢١٩	الفصل السادس : بنك الدم	
٢٢١	اختبار وفحص المتبرع	١٢٥
٢٢٤	سحب الدم من المتبرعين والتعامل مع ردود أفعالهم	١٢٦
٢٢٧	فصل مكونات الدم عن بعضها	١٢٧
٢٣٠	الكشف عن المجموعة الدموية في نظام ABO بالطريقة المباشرة	١٢٨
٢٣٢	الكشف عن المجموعة الدموية في نظام ABO بالطريقة غير المباشرة	١٢٩
٢٣٤	تصنيف عينات الدم بالكشف عن الانتيجين	١٣٠
٢٣٦	الكشف عن انتيجينات C و E و c و e في نظام Rh-Hr	١٣١
٢٣٨	تحضير معلق الخلايا الحمراء	١٣٢
٢٤٠	تحضير معلق الخلايا الليمفاوية بطريقة فيكول وهابياكو	١٣٣
٢٤٢	الكشف عن انتيجينات الخلايا البيضاء الدموية بالطرق المصلية	١٣٤
٢٤٤	الكشف عن انتيجينات الخلايا البيضاء الأنمية بالطريقة الليمفاوية	١٣٥
٢٤٦	تجربة كومب المباشرة	١٣٦
٢٤٨	تجربة كومب غير المباشرة	١٣٧
٢٥٠	تجربة الموافقة الكبرى والصغرى	١٣٨
٢٥٢	تجربة البانيل	١٣٩
٢٥٤	حفظ محاليل الخلايا الحمراء مجمدة	١٤٠
٢٥٦	الكشف عن انتيجينات البقع الحيوية بتجربة الضل الدقيقة	١٤١
٢٥٩	الفصل السابع : علم الألبياء الحيوية السريرية	
٢٦١	تحضير المحاليل القياسية	١٤٢
٢٦٤	استخدام الماصات	١٤٣
٢٦٩	استخدام السحاحة في المعايرات الكيميائية	١٤٤
٢٧٣	استخدام الميزان المخبري	١٤٥
٢٧٨	معايرة الفيتامين جـ في عينات الدم والبول	١٤٦

الفصل الثامن ، علم الأيماء التحليلية

٢٨١	
٢٨٣	اختيار الموجة الضوئية في التحليل الطيفي
٢٨٥	تحديد مدى القياس في تجارب التحليل الطيفي
٢٨٧	الامتصاص الورقي أحادي وثنائي الأبعاد
٢٩٢	تحضير وحدة الترحيل الكهربائي بهلام الآجار
٢٩٥	الترحيل الكهربائي للبروتينات ومشتقاتها
٢٩٩	استخدام التحليل الطيفي اللوني
٣٠٢	استخدام التحليل الطيفي الفعالي في قياس نشاط انزيمات
٣٠٤	استخدام جهاز التحليل اللهبى القاذف
٣٠٧	استخدام القطب الانتقائي الأيوني
٣٠٩	الكشف عن مظهر البول
٣١٠	قياس الرقم الهيدروجيني (pH) العينة البول باستخدام الأشرطة الورقية
٣١١	قياس الكثافة النوعية للبول
٣١٤	الفحص المجهرى لرواسب البول
٣١٦	تعداد الرواسب الخلوية في البول بطريقة أديس
٣١٩	الكشف عن السكر في البول
٣٢١	الكشف عن الجلوكوز في البول باستخدام الأشرطة الورقية
٣٢٢	الكشف عن الزلال في البول بالتسخين
٣٢٤	الكشف عن الزلال في البول بواسطة السلفوساليسيليك
٣٢٥	الكشف عن الزلال في البول بالأشرطة الورقية
٣٢٦	الكشف عن المركبات الكيتونية في البول بطريقة روتيرا
٣٢٨	الكشف عن الصفراء في البول بطريقة فوشيت
٣٣٠	الكشف عن اليوروبيلينوجين واليوروفيلينوجين في البول
٣٣٣	تجربة تحمل الجلوكوز
٣٣٨	جمع البول (٢٤) ساعة وقياس سرعة إدراره
٣٤٠	فحص التنقية الكلوية
٣٤٣	
٣٤٣	دلالة الرموز
٣٤٥	المراجع
	التمرس

كتب الدار الصادرة

1. الكتب الطبية	2. الكتب التجارية	3. الكتب العلمية
علم وظائف الأعضاء تخزين الأدوية وحفظها أساسيات طب العيون بنوك الدم الطوم العامة علم الأحياء الدقيقة جـ 2/1 الكيمياء الحيوية مبادئ الصحة العامة الإسعاف الأولي الأحياء الدقيقة / علمي الدوريات / علمي الأجهزة الطبية / علمي الكيمياء التحليلية / علمي الكيمياء العضوية / علمي الكيمياء الحيوية / علمي المناعة والأمصال / علمي الإرث والتطبيقات / علمي الكفايات العلمية لتخصص المختبرات الطبية ملقنة في علم الأمراض	أساسيات الإدارة الحديثة مبادئ الاستثمار مبادئ الاقتصاد استراتيجية التسويق أبعاد التنمية في الوطن العربي إدارة المبيعات مبادئ التسويق أساسيات الإدارة المالية في القطاع الخاص محاسبة للتكاليف الصناعية المحاسبة الحكومية المالية العامة (علوم مصرفية) التدريبات العملية في التجارة المحاسبة الأولية دراسات في محاسبة المنشآت الخاصة تطبيقات المحاسبة على الحاسوب أصول المحاسبة 1 أصول المحاسبة 2 علم تدقيق الحسابات مبادئ القوائم التجارية المحاسبة لضريبة الاقتصاد الكلي الاقتصاد الجزئي	أساسيات الرقمنة تجاه الثورة العربية الكبرى خطوة خطوة في الحج والصرة عالمان مختلفان "الرجل والمرأة" علم الاجتماع المبني ... (إشياء الحرب والعنف والسلام فقه العبادات (1) الطهارة والصلاة 2. كتب الحاسوب الكمبيوتر وتطبيقاته البرمجة بلغة التجميع جـ 2/1 تركيب البيانات معالجة النصوص نظم تشغيل إنجليزي البرمجة الهيكلية بلغة باسكال 3. كتب الطب علم المناعة والأمصال علم الأنسجة علم التطبيقات الطبي إجراءات السلامة العامة ضبط الجودة النوعية الكيمياء التحليلية طرق التحليل الآلي إجراءات السلامة المخبرية الفيزياء الكلاسيكية
2. الكتب الهندسية والفنية	4. الكتب الانسانية	
الاستثمار عن بعد في الهندسة المدنية المواصفات العامة للأبنية الهندسة البيئية تكنولوجيا الخياطة العقود والمواصفات وحساب الكميات الهندسة الصحية عقود المقاولات الإنشائية المطالبات والمخالفات في عقود المقاولات تصميم الأزياء تصميم المخططات والخياطة مبادئ التصميم تاريخ الفن 2/1	الحقائب التدريبية اللغة العربية - ثقافة عامة مختارات من الشعر العربي الحديث دراسات في اللغة والأدب الإدارة والإشراف التربوي دليل البحث والتقويم التربوي الجغرافيا المناخية الطبخ العربي باللغة الإنجليزية في رحاب محمد ﷺ "ديوان شعر" سيكولوجية الطفولة	

هذا الكتاب

تم وضع هذا الكتاب باللغة العربية ليشمل الكفايات العملية لتخصص
فنيو اختبرات الطبية بأسلوب علمي تطبيقي ليتسنى للطلاب التحضير
المسبق للتجارب العملية التي سيطبقها في اختبرات ويحتكم إليه كأداة
قياس على مدى إتقانه الخطوات والمهارات التي يجب ممارستها في المختبر
سواء كان طالباً أو فنياً . ولكي تعمق لدى القارئ الخلفية النظرية لكل
كفاية عملية فقد تم تضمين كل كفاية عملية مبدءاً علمي والهدف من
إجرائها .

الناشر



DAR AL-MOSTAQBAL
For Pub & Dist
Amman - Jordan

P.O.Box 184248 - 11118 Telefax 4658263